

Aus der Klinik für Hämatologie, Onkologie und Immunologie der
Philipps-Universität Marburg
Geschäftsführender Direktor Prof. Dr. A. Neubauer
des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg
in Zusammenarbeit mit dem
Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH,
Standort Marburg

**Auswirkungen der strahlen– und chemotherapeutischen
Vorbehandlung auf die Mobilisation und Separation von peripheren
Blutstammzellen bei Patienten mit Plasmozytom**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin
(Dr. med.)

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Jan-Peter Rinn

aus Lippstadt

Marburg/Lahn 2007

Aus der Klinik für Hämatologie, Onkologie und Immunologie der
Philipps-Universität Marburg
Geschäftsführender Direktor Prof. Dr. A. Neubauer
des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg
in Zusammenarbeit mit dem
Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH,
Standort Marburg

**Auswirkungen der strahlen– und chemotherapeutischen
Vorbehandlung auf die Mobilisation und Separation von peripheren
Blutstammzellen bei Patienten mit Plasmozytom**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin
(Dr. med.)

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von
Jan-Peter Rinn
aus Lippstadt

Marburg/Lahn 2007

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
am: 28.11.2007

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches

Dekan: Prof. Dr. M. Rothmund

Referent: PD Dr. M. Ritter

Korreferent: Prof. Dr. G. Bein

Für Danni

1. Einleitung	1
1.1. Definitionen	1
1.2. Epidemiologie	2
1.3. Ätiologie	3
1.4. Pathogenese und Pathophysiologie	3
1.5. Klinik	5
1.6. Diagnostik	7
1.7. Verlauf und Prognose	11
1.8. Therapie	13
1.8.1. Allgemeines	13
1.8.2. Strahlentherapie	14
1.8.3. Chemotherapie	15
1.8.3.1. Konventionelle Chemotherapie	16
1.8.3.2. Hochdosis-Chemotherapie mit anschließender Transplantation autologer Blutstammzellen	16
1.8.3.2.1. Prinzip der autologen Blutstammzelltransplantation bei multiplem Myelom	16
1.8.3.2.2. Mobilisation peripherer Blutstammzellen	18
1.8.4. Bisphosphonate	20
1.8.5. Neue Therapien	21
1.8.5.1. Thalidomid und Analoga	21
1.8.5.2. Proteasomeninhibitoren	21
1.8.6. Zielsetzung	22
2. Patienten und Methoden	24
2.1. Patientenkollektiv	24
2.2. Datenerhebung	24
2.3. Patientencharakteristika	25
2.4. Vorangegangene Chemotherapie	25
2.5. Strahlentherapeutische Vorbehandlung	28
2.6. Blutstammzellmobilisation	29
2.7. Analyse der Anzahl zirkulierender Blutstammzellen	31
2.8. Planung und Durchführung der Leukapherese	31
2.9. Qualitätskontrolle der Apherese- Produkte	31
2.10. Kryokonservierung der Apheresate	32
2.11. Auswertung	32
2.11.1. Software und Zielvariablen	32
2.11.2. Deskriptive Statistik	33

2.11.3. Graphische Darstellungen	33
2.11.3.1. Box- und Whisker- Plot-Darstellung	33
2.11.3.2. Streudiagramme	33
2.11.4. Univariate Analyse	34
2.11.4.1. Univariate lineare Regression	34
2.11.4.2. Kolmogorow- Smirnow- Anpassungstest	34
2.11.4.3. U-Test nach Mann und Whitney	34
2.11.4.4. H-Test nach Kruskal und Wallis	35
2.11.4.5. Chi- Quadrat-Test nach Pearson	35
2.11.4.6. Exakter Test nach Fisher	35
2.11.5. Multiple Regression	35
3. Ergebnisse	37
3.1. Vorthherapie	37
3.1.1. Vergleichbarkeit der Gruppe bestrahlter und unbestrahlter Patienten bezüglich klinischer und biologischer Parameter	37
3.1.2. Strahlentherapeutische Vorbehandlung	37
3.1.3. Chemotherapie	40
3.1.3.1. Verwendete Chemotherapie-Regime	40
3.1.3.2 Toxizität der Chemotherapie	40
3.1.4. Dauer der Erkrankung und Therapiepause vor der Mobilisation	41
3.1.5. Mobilisation	42
3.2. Prädiktive Blutparameter für den Ertrag einer Leukapherese	43
3.3. Univariate Analyse	46
3.3.1. Analyse des Einflusses der strahlentherapeutischen Vorbehandlung auf die Mobilisation und Separation	46
3.3.2. Analyse des Einflusses der bestrahlten Region auf die Mobilisation und Separation	50
3.3.3. Analyse des Einflusses der chemotherapeutischen Vorbehandlung auf die Mobilisation und Separation	51
3.3.4. Analyse des Einflusses von klinischen und biologischen Variablen auf die Mobilisation und Separation	54
3.3.5. Analyse des Einflusses der Mobilisations-Chemotherapie und der G- CSF- Dosis auf die Mobilisation und Separation	55
3.3.6. Andere Faktoren	56
3.4. Multivariate Analyse	56
3.5. Untersuchung einer bezüglich der Mobilisation einheitlichen Subgruppe	58

4. Diskussion	59
4.1. Patientenkollektiv	59
4.2. Auswahl der Zielvariablen	60
4.2.1. Ertrag an CD34+ Zellen/kg Körpergewicht	60
4.2.2. Anzahl der CD34+ Zellen/ μ l peripheren Blutes	61
4.2.3. Anzahl der GM-CFU/kg Körpergewicht	62
4.2.4. Weitere Blutwerte	62
4.3. Einfluss klinischer und biologischer Parameter auf die Mobilisierbarkeit	62
4.4. Strahlentherapeutische Vorbehandlung	64
4.5. Chemotherapeutische Vorbehandlung	68
4.6. Mobilisationstherapie	70
4.7. Einfluss des technischen Fortschritts	72
4.8. Auswirkungen der verschiedenen Einflussfaktoren auf die Anzahl der GM-CFU/kg Körpergewicht	72
4.9. Schlussfolgerungen	74
5. Zusammenfassung	75
6. Literatur	77
7. Lebenslauf	93
8. Veröffentlichungen	94
9. Verzeichnis der akademischen Lehrer	95
10. Danksagung	96
11. Ehrenwörtliche Erklärung	97

1. Einleitung

1.1. Definitionen

Hochdosis-Chemotherapie (HDCT) gefolgt von autologer Stammzelltransplantation zählt neben der konventionellen Chemotherapie und der lokalen strahlentherapeutischen Behandlung von schmerzhaften und frakturgefährdeten Osteolysen zu den Standardtherapien in der Behandlung des Plasmozytoms und führt erwiesenermaßen zur Verlängerung der Remissions- und Überlebensdauer (Attal, Harousseau et al. 1996). Für die Durchführbarkeit dieser Therapieoption ist die vorherige Gewinnung einer ausreichenden Anzahl autologer hämatopoetischer Stammzellen aus dem peripheren Blut des Patienten unerlässlich, um eine zügige Rekonstitution der Hämatopoese nach der potentiell lebensbedrohlichen myeloablativen HDCT zu gewährleisten. Bei einigen Patienten ist die Gewinnung einer ausreichenden Zahl hämatopoetischer Stammzellen nicht möglich, so dass diesen Patienten die HDCT verwehrt bleibt, die in zahlreichen Studien einen positiven Einfluss auf das Überleben der Patienten gezeigt hat (Bensinger, Appelbaum et al. 1995; Beguin, Baudoux et al. 1998).

Als mögliche Gründe für die unzureichende Mobilisierbarkeit hämatopoetischer Stammzellen in das periphere Blut werden in der Literatur seit langer Zeit eine vorangegangene konventionelle Chemotherapie und Strahlentherapie diskutiert (Haas, Mohle et al. 1994; Bensinger, Appelbaum et al. 1995; Kobbe, Sohngen et al. 1999). Der Einfluss der Strahlentherapie auf die Mobilisierbarkeit hämatopoetischer Stammzellen wurde bisher jedoch nur unzureichend quantifiziert.

In der folgenden Arbeit soll daher die Auswirkung der Bestrahlung auf die Stammzellausbeute quantitativ untersucht werden. Darüber hinaus sollen auch die Chemotherapie sowie verschiedene biologische und klinische Charakteristika der Patienten auf ihren Einfluss hin untersucht werden.

In der weiteren Einleitung wird auf das Krankheitsbild sowie die Diagnostik und Therapie eingegangen und die Problemstellung und Zielsetzung dieser Arbeit verdeutlicht.

Das Plasmozytom, auch als Multiples Myelom (MM) oder Morbus Kahler bezeichnet, zählt zu den Non-Hodgkin-Lymphomen. Es ist eine neoplastische Erkrankung, die sich durch eine klonale Expansion von terminal differenzierten B-Lymphozyten (Plasmazellen) auszeichnet.

Die malignen Plasmazellen (Myelomzellen) sezernieren häufig monoklonale Immunglobuline (Paraproteine) der Typen IgG (50-60%), IgA (25%), IgD (2%), selten IgE oder IgM (<1%). Beim Leichtkettenmyelom, das in ca. 10% der Fälle auftritt, werden nur die Leichtketten der

Immunglobuline vom Typ lambda oder kappa (Bence-Jones-Proteine) gebildet. In seltenen Fällen (<2%) kommt es zum Auftreten eines asekretorischen Myeloms ohne die Ausbildung von Paraproteinen (Pruzanski et Ogryzlo 1970).

Die Myelomzellen befinden sich in der Mehrzahl der Fälle ausschließlich im Knochenmark; sie sind dort entweder diffus verteilt oder an multiplen Orten akkumuliert. Weitere Manifestationsformen (ca. 3%) sind solitäre medulläre oder ossäre Plasmazelltumore und das extramedulläre Plasmozytom. Die bevorzugte Lokalisation des extramedullären Myeloms sind die Lymphknoten und der Bereich des Nasen-Rachenraumes, seltener tritt ein Befall des Nervensystems, der Haut oder anderer Organe auf (Sirohi et Powles 2004).

Liegen bei einem MM mehr als 2000 Plasmazellen pro μl im peripheren Blut oder mehr als 20% Plasmazellen im Differentialblutbild vor, so spricht man von einer Plasmazellleukämie. Diese Unterform des MM zeichnet sich durch eine besonders ungünstige Prognose aus (Sirohi and Powles 2004). Weiterhin muss vom MM die monoklonale Gammopathie ungewisser Signifikanz (MGUS) und das so genannte smouldering Myelom abgegrenzt werden. Beim MGUS sind, abgesehen von den Blutbildveränderungen, keine weiteren Symptome des MM vorhanden. Es entwickelt sich in 25% der Fälle zum MM weiter. Das smouldering Myelom (ca. 2% der Patienten) ist als Unterform des MM anzusehen und erfüllt dessen Kriterien, bleibt jedoch über einen längeren Zeitraum (mehrere Jahre) klinisch stationär. Nach derzeitiger Auffassung bedarf es keiner Therapie, sondern lediglich der Überwachung, um einen Progress zu erkennen (Draube, Tesch, et al. 1999).

1.2. Epidemiologie

Nach neueren Studien aus den USA beträgt der Anteil des MM an der Gesamtheit aller malignen Erkrankungen bei Kaukasiern ca.1% mit einer Prädominanz für das männliche Geschlecht. Die mittleren jährlichen alters-adjustierten Inzidenzraten betragen unter der weißen Bevölkerung 4,7/100000 bei Männern und 3,2/100000 bei Frauen mit einer etwa zweifach höheren Rate für schwarze als für weiße US-Amerikaner. Es handelt sich um eine Erkrankung des höheren und hohen Lebensalters. Die mittlere jährliche altersspezifische Inzidenzrate steigt mit dem Alter stark an und erreicht die höchsten Werte in der 8. Lebensdekade, der Altersmedian liegt um das 65 Lebensjahr. Lediglich 3% der Patienten sind jünger als 40 Jahre (Sirohi et Powles 2004).

1.3. Ätiologie

Die Ätiologie des MM ist bis heute nicht vollständig geklärt. Man geht von einer multifaktoriellen Genese aus, da sowohl genetische Faktoren als auch Umweltfaktoren bei der Entstehung der Erkrankung eine Rolle zu spielen scheinen.

Für die Beteiligung genetischer Faktoren an der Krankheitsentstehung spricht das familiäre Auftreten des MM, das heute als gesichert gilt, jedoch ohne eindeutige Evidenz als hereditäre Erkrankung (Shoenfeld, Berliner et al. 1982). Auch die Assoziation der Erkrankung mit dem Auftreten der HLA-Allele A3 und Cw2 spricht für die ätiologische Relevanz genetischer Komponenten (Riedel et Pottern 1992).

Von den erforschten Umweltfaktoren ist der Einfluss der Strahlenexposition mit ihrem karzinogenen Potential am genauesten untersucht. Ein Drittel der MM-bedingten Todesfälle in Japan zwischen 1950 und 1985 ließen sich auf den radioaktiven fall-out von 1945 nach den Atombomben von Hiroshima und Nagasaki zurückführen (Shimizu, Kato et al. 1992). In Studien über die berufsbedingte niedrigdosierte Langzeitexposition bei radiologisch tätigen Ärzten, ergab sich ein etwa zweifach höheres Myelomrisiko (Matanoski, Seltser et al. 1975).

Neben der Strahlenexposition werden auch Substanzen der metall- und gummiverarbeitenden Industrie sowie Pestizide und Dioxin mit der Entstehung des MM in Zusammenhang gebracht (Morris, Koepsell et al. 1986).

Möglicherweise sind auch eine frühere Exposition gegenüber viralen oder bakteriellen Erkrankungen (BCG, Diphtherie, Scharlach, Keuchhusten), aktive Immunisierungen, Allergien oder Autoimmunstörungen ätiologische Faktoren (Rettig, Ma et al. 1997).

1.4. Pathogenese und Pathophysiologie

Der hochkomplexe Mechanismus der Pathogenese und Pathophysiologie des multiplen Myeloms ist bis heute nicht vollständig verstanden. Es sind jedoch Zusammenhänge und Faktoren bekannt, die für die Entstehung und den Verlauf der Erkrankung von Bedeutung sind.

Die Entstehung eines malignen Klons von Myelomzellen aus einer normalen Plasmazelle im Knochenmark findet nach heutigem Kenntnisstand in einem Mehrstufenprozess statt. Obwohl nicht jeder Schritt in jedem Patienten nachweisbar ist, so scheinen im Verlauf dieses Prozesses doch gewisse Veränderungen der Zelle regelhaft durchlaufen zu werden, die jeweils mit zytogenetischen Veränderungen in Verbindung zu bringen sind. Abbildung 1.1. zeigt die Umwandlung einer normalen Plasmazelle zur malignen Plasmazelle sowie die wichtigsten zytogenetischen Veränderungen, die für den Prozess von Bedeutung zu sein

scheinen. Ein bedeutendes frühes Ereignis in der Pathogenese des MM sind die Translokationen mit Beteiligung des IgH Locus (14q32).

Aufgrund der Häufigkeitsverteilung zwischen 50% bei Patienten mit MGUS und 80% bei den Patienten mit extramedullärem Myelom postulierten Hallek et al., dass es sich bei der Translokation 14q32 um ein frühes immortalisierendes Ereignis handele, welches den Übergang von der normalen Plasmazelle zu MGUS darstelle. Je nach Partnerchromosom dieser Translokation sind verschiedene Gene betroffen (Hallek, Bergsagel et al. 1998), (Abbildung 1.1.). Die IgH- Translokation führt über die Deregulation verschiedener Gene, z.B. des c-myc Onkogens (Amati et Land 1994; Li, Nerlov et al. 1994; Henriksson et Luscher 1996), Cyclin D1 (Motokura et Arnold 1993) und des fibroblast growth factor receptor 3 (FGFR3) (Chesi, Nardini et al. 1997) zur Störung der Differenzierung, Proliferation und Apoptose der Plasmazellen und zur Ausbildung einer MGUS. Die MGUS-Zelle hat zwar die Fähigkeit zur Apoptose verloren, zeigt jedoch keine maligne Entartung und kein progressives oder destruierendes Wachstum. Für die Progression des MGUS zum intramedullären Myelom wird u.a. die Deletion des Chromosoms 13q14 verantwortlich gemacht, die bei ca. 50% der Patienten mit MM nachgewiesen werden kann, aber nur bei wenigen Patienten mit MGUS (Avet-Loiseau, Facon et al. 1999). Die ras- Mutationen werden ebenfalls als Ursache für den Übergang der MGUS zum intramedullären multiplen Myelom diskutiert. (Corradini, Ladetto et al. 1993; Hallek, Bergsagel et al. 1998). Dieser Übergang resultiert aus der Selektion eines einzelnen Zellklons, der dann die maligne Expansion beginnt.

Die seltene Entstehung eines extramedullären Myeloms scheint mit p 53-Mutationen assoziiert zu sein (Hallek, Bergsagel et al. 1998).

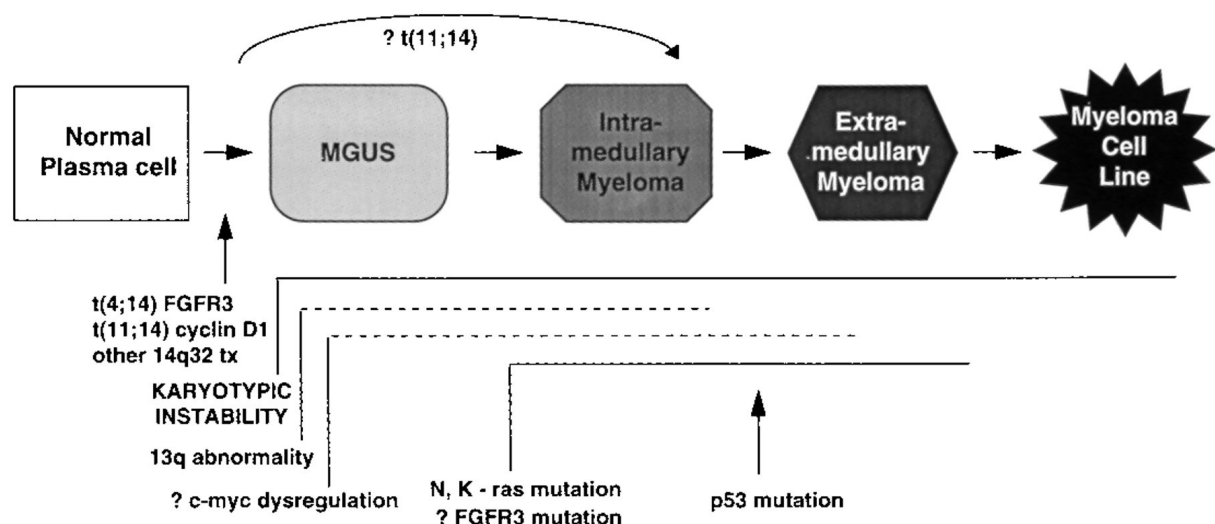


Abbildung 1.1.: Die Entwicklung des MM (Hallek, Bergsagel et al. 1998)

Nach der Immortalisation der Plasmazellen scheint das Mikroenvironment des Knochenmarks, bestehend aus Stromazellen, extrazellulären Matrixproteinen, Osteoblasten

und Osteoklasten von großer Bedeutung für das Fortschreiten der Erkrankung zu sein. Maligne Plasmazellen sind in enger Assoziation mit Stromazellen fast ausschließlich im Knochenmark zu finden, extramedulläre Lokalisationen sind eher selten.

Interleukin 6 (IL6) ist das wichtigste Zytokin in der Biologie des MM und wird von Myelom- und Stromazellen parakrin sezerniert (Klein, Zhang et al. 1995). Die Sekretion von IL6 wird durch die Adhäsion der Myelomzelle an die Stromazelle des Knochenmarks und Zell-Zell-Interaktion induziert. Durch den Nuclear Factor κ B (NF κ B), der in der Stromazelle vorkommt, wird die Sekretion von IL6 verstärkt (Klein, Zhang et al. 1995; Chauhan, Uchiyama et al. 1996). Im Tiermodell konnte einerseits gezeigt werden, dass in IL-6-defizienten Mäusen keine Plasmazelltumore induziert werden können (Hilbert, Kopf et al. 1995), andererseits deuten Untersuchungen von Chatterjee et al. darauf hin, dass IL6 für das Überleben der Myelomzelle nicht essenziell ist (Chatterjee, Honemann et al. 2002).

Die Interaktion zwischen Myelom- und Stromazellen steigert auch die Sekretion verschiedener Zytokine, die eine wichtige Rolle für das Wachstum der Myelomzellen, die Angiogenese und die Aktivierung der Osteoklasten spielen.

Ein wesentliches klinisches Symptom bei Patienten mit MM sind Osteolysen und pathologische Frakturen, die aus einem verstärkten osteoklastischen Abbau von Knochensubstanz resultieren. Die erhöhte Aktivität von Osteoklasten wird auf Osteoklasten-aktivierende Faktoren zurückgeführt, die von Myelomzellen gebildet oder induziert werden. Als mögliche Vermittler des Knochenabbaus sind neben anderen vor allem MIP-1 α sowie das RANK/RANK- Ligand/Osteoprotegerin- System untersucht worden (Giuliani, Bataille et al. 2001; Sezer, Heider et al. 2002).

1.5. Klinik

In den meisten Fällen beginnt die Erkrankung schleichend und symptomarm mit unspezifischen Allgemeinsymptomen wie Abgeschlagenheit und Gewichtsverlust. Spezifische Symptome resultieren zum einen aus der Destruktion von Knochen durch die malignen Plasmazellen, zum anderen aus der Verdrängung und der daraus folgenden Insuffizienz des gesunden hämatopoetischen Knochenmarks sowie aus der Ablagerung der durch die Myelomzellen gebildeten Paraproteine in verschiedenen Organen. Als Folge der Insuffizienz des hämatopoetischen Knochenmarks, von der alle Zellreihen betroffen sein können, kommt es zu Anämie, Blutungsneigung und zur Infektanfälligkeit. Aufgrund der Paraproteinämie, vor allem bei Sezernierung von Leichtketten, so genannten Bence-Joncs-Proteinen, kann eine Niereninsuffizienz auftreten. Seltener kommt es zum Hyperviskositätssyndrom, das vor allem durch IgA hervorgerufen wird und mit unspezifischen neurologischen Symptomen wie Schwindel, Sehstörungen und Ataxie

einhergeht (Sirohi et Powles 2004). Die durch die malignen Plasmazellen gesteigerte Osteoklastenaktivität führt zu Osteolysen, starken Knochenschmerzen, pathologischen Frakturen und zu Hyperkalziämie. Die klinischen Symptome des MM und deren Häufigkeiten zum Zeitpunkt der Diagnose sind in Tabelle 1.1. dargestellt.

Tabelle 1.1.: Klinische Symptome des MM und deren Häufigkeiten zum Zeitpunkt der Diagnose (Sirohi et Powles 2004)

Symptom	Häufigkeit des Auftretens
Knochenschmerzen	83%
Infektionen	21%
Müdigkeit	18%
Gewichtsverlust	18%
Tumorbildung (Haut, visceral)	8%
Hepatosplenomegalie	6%
Lymphadenopathie	4%
Ödeme	2%
Purpura	1%

Am häufigsten ist das Rumpfskelett von Osteolysen betroffen. Eine Übersicht über die Lokalisationen der Knochendestruktionen und deren Häufigkeiten zeigt Tabelle 1.2.. Knochenschmerzen sind mit 83% das häufigste Symptom, das zur Diagnose führt. Bei ca. 20% der Patienten erfolgt die Diagnose zufällig, wobei häufig eine stark erhöhte Blutsenkungsgeschwindigkeit (Sturzsenkung) als erster Befund imponiert (Sirohi et Powles 2004).

Tabelle 1.2.: Lokalisation der Knochendestruktion bei MM nach Freyschmidt (Freyschmidt et Wiers 1998)

Lokalisation des Befalls	Häufigkeit des Auftretens
Befall der Wirbelsäule	72%
BWS	62%
LWS	55%
Befall von Schädel und Rippen	70%
Beckenbefall	52%
Befall der unteren Extremitäten	55%
Befall der oberen Extremitäten	41%
negativer Röntgenerstbefund	10%

1.6. Diagnostik

Die Diagnostik erfolgt gemäss den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie (DGHO) (Liebisch et Peest 2005) und dient der Diagnosesicherung, dem Staging und der Erkennung von Komplikationen, sowie der Prognoseabschätzung. Die Basisdiagnostik des multiplen Myeloms umfasst neben der Anamnese und der körperlichen Untersuchung eine umfassende Labordiagnostik, Röntgendiagnostik, eine Knochenmarkzytologie und –histologie und bei solitärem Plasmozytom eine Biopsie des Tumors.

Die Diagnose eines MM wird in der Regel nach den international anerkannten Kriterien von Durie gestellt (Greipp 1992) (Tabelle 1.3.).

Die Stadieneinteilung erfolgt standardmäßig nach Salmon und Durie (Durie et Salmon 1975) (Tabelle 1.4.). Das Durie/Salmon Plus Staging System berücksichtigt zusätzlich zu den Diagnosekriterien von Durie und Salmon die Befunde moderner Bildgebung wie dem MRT zur Beurteilung von Knochenläsionen (Durie, 2006; Baur, Stabler et al. 2002). Neuere Staging- Systeme wie der International Prognostic Index berücksichtigen Serum-Albumin und beta-2 Mikroglobulin im Serum bei der Stadieneinteilung und Prognoseeinschätzung (Greipp, San Miguel et al. 2005; Jacobson, Hussein et al. 2003).

Ein weiterer Ansatz zur Abschätzung der Prognose von Myelompatienten besteht in der Bestimmung der Anzahl an Myelomzellen im Blut mittels Durchflusszytometrie (Dingli, Nowakowski et al. 2006).

Tabelle 1.3.: Diagnostische Kriterien für MM und MGUS nach Durie (Greipp 1992)

Multiples Myelom MM		
Hauptkriterien		
I	Plasmozytom in einer Gewebebiopsie	
II	Plasmazellinfiltration im Knochenmark	>30%
III	Monoklonales IgG	>3,5g/dl
	Monoklonales IgA	>2g/dl
	Leichtkettenexkretion im Urin	>1g/24h
Nebenkriterien		
a	Plasmazellinfiltration im Knochenmark	10-30%
b	Paraprotein nachweisbar, jedoch < als in III	
c	Osteolysen	
d	residuelles normales IgM	<50mg/dl
	oder residuelles normales IgA	<100mg/dl
	oder residuelles normales IgG	<600mg/dl
Diagnose MM gesichert, falls erfüllt sind		
	2 Hauptkriterien oder	
	1 Haupt- und 1 Nebenkriterium oder	
	3 Nebenkriterien die Kriterien a und b enthalten	
MGUS		
I	Monoklonale Gammopathie mit:	
	Monoklonales IgG	<3,5g/dl
	Monoklonales IgA	<2g/dl
	Leichtkettenexkretion im Urin	<1g/24h
II	Polyklonale Immunglobuline normwertig	
III	Plasmazellinfiltration im Knochenmark	<10%
IV	keine Knochenläsionen	
V	Keine Symptome oder krankheitsassoziierte Zeichen:	
	Hb	>10g/dl
	Serum- Kreatinin	<2mg/dl
	keine Infektionen	
	Serum-Calcium im Normbereich	

Tabelle 1.4.: Stadieneinteilung des MM nach Salmon und Durie (Durie et Salmon 1975)

Kriterien	Stadium	Tumormasse
Alle der folgenden Kriterien:	I	$<0,6 \times 10^{12}/\text{m}^2$ KOF
Hb $<10\text{g/dl}$		
Serumkalzium normal		
normale Knochenstruktur oder max. 1 solitärer Herd		
niedrige Paraproteinkonzentrationen im Serum:		
IgG $<50\text{g/l}$		
IgA $<30\text{g/l}$		
Bence- Jones- Proteine im Urin $<4\text{g/24h}$		
Patienten, die nach den Kriterien weder zum Stadium I noch zum Stadium III gehören	II	$>0,6 < 1,2 \times 10^{12}/\text{m}^2$ KOF
Ein oder mehrere der folgenden Kriterien:	III	$>1,2 \times 10^{12}/\text{m}^2$
Hb $<8,5\text{ g/dl}$		
Serumkalzium erhöht		
fortgeschrittene Knochenläsionen		
hohe Paraproteinkonzentrationen im Serum:		
IgG $>70\text{g/l}$		
IgA $>50\text{g/l}$		
Bence- Jones- Protein im Urin $>12\text{g/24h}$		
Zusatz "A"= Serumkreatinin$<2\text{mg/dl}$		
Zusatz "B"= Serumkreatinin$>2\text{mg/dl}$		

Der Verlauf der Erkrankung muss durch regelmäßige Kontrolluntersuchungen beurteilt werden.

Änderungen der Myelomproteinkonzentration im Serum und der Menge der im Urin über 24 Stunden ausgeschiedenen monoklonalen Immunglobulinleichtketten gehen in der Regel gleichsinnig mit Veränderungen der Tumorzellmasse einher.

Remission oder Progression werden anhand von Kriterien der Europäischen Knochenmarktransplantationsgruppe definiert (Blade, Samson et al. 1998) (Tabelle 1.5.).

Tabelle 1.5.: Kriterien zur Beurteilung des Ansprechens auf Therapie (Blade, Samson et al. 1998)

Komplette Remission (CR), alle Kriterien	Verschwinden des Paraproteins im Serum und Urin, bestimmt mit der Immunfixationselektrophorese
	<5% Plasmazellen im Knochenmark
	keine Zunahme der Zahl oder Größe von Osteolysen
	Verschwinden von Weichteilplasmozytomen
Partielle Remission (PR), alle Kriterien	≥50% Reduktion des Paraproteins im Serum
	≥90% Reduktion monoklonaler Leichtketten im 24-Std.-Urin
	Bei Non- Sekretoren 25-49% Reduktion der Plasmazellen im Knochenmark
	≥50% von Weichteilplasmozytomen
	keine Zunahme der Zahl oder Größe von Osteolysen
Minimale Remission (MR), alle Kriterien	25-49% Reduktion des Paraproteins im Serum
	50-89% Reduktion monoklonaler Leichtketten im 24.-Std.-Urin
	bei Non- Sekretoren 25-49% Reduktion der Plasmazellen im Knochenmark
	25-49% Reduktion von Weichteilplasmozytomen
	keine Zunahme der Zahl oder Größe von Osteolysen
No change (NC)	nicht Minimal Response und nicht Progress
Progress, 1 Kriterium reicht aus	>25% Zunahme des Paraproteins im Serum
	25% Zunahme monoklonaler Leichtketten im 24-Std.-Urin
	bei Non- Sekretoren >25% Zunahme der Plasmazellen im Knochenmark
	Größenzunahme oder neue Weichteilplasmozytome
	Zunahme der Zahl oder Größe von Osteolysen
	Entwicklung einer Hyperkalzämie

1.7. Verlauf und Prognose

Beim MM handelt es sich um eine mit den heutigen Therapiemethoden nicht heilbare Erkrankung.

Der klinische Verlauf des MM zeigt eine starke Variabilität und reicht von hoch aggressiven, weitgehend therapierefraktären Verläufen mit einer medianen Überlebenszeit von nur wenigen Monaten bis hin zu langjährigen, gutartigen Verläufen mit beständigen Remissionen. Die mittlere Überlebenswahrscheinlichkeit beträgt abhängig vom Stadium der Erkrankung im Stadium I etwa 62 Monate, im Stadium II ca. 44 und im Stadium III 29 Monate (Greipp, San Miguel et al. 2005).

Abgesehen von dem Erkrankungsstadium und der Therapie ist die individuelle Prognose des Patienten abhängig von zahlreichen klinischen, laborchemischen und zytogenetischen Parametern. Bei Patienten höheren Alters wird die Mortalität zunehmend durch Zweiterkrankungen ungünstig beeinflusst (Peest, Coldewey et al. 1991).

Der Nachweis von Veränderungen am Chromosom 13 gilt dabei derzeit als wichtiger Hinweis auf eine ungünstige Prognose (Facon, Avet-Loiseau et al. 2001). In einer Studie von Seong et al. betrug die mediane Überlebenszeit bei Patienten mit normalem Karyotyp 35 Monate und bei Patienten mit anderen Aberrationen 34 Monate. Dagegen lag die mediane Überlebenszeit bei Patienten mit einer Deletion des Chromosoms 13q nur bei 10 Monaten (Seong, Delasalle et al. 1998).

Einen Überblick über wichtige Faktoren mit Einfluss auf die Prognose zeigt Tabelle 1.6.

Tabelle 1.6.: Prognoseparameter

(Bartl, Frisch et al. 1987; Simonsson, Brenning et al. 1987; Greipp, Katzmann et al. 1988; Blade, Rozman et al. 1989; Cavo, Galieni et al. 1989; Luoni, Ucci et al. 1992; Peest, Coldewey et al. 1993; Sailer, Vykoupil et al. 1995)

Prognoseparameter	Einfluss auf Prognose und Überleben	
	günstig	ungünstig
Allgemeinzustand	gut	schlecht
Tumorzellmorphologie	gut	schlecht
Differenzierungsgrad	hoch	gering
Knochenmarkinfiltration (%)	bis 50	>50
Proliferationsindex der Plasmazellen (%)	1,0	>1,0
Tumorzellmasse ($\times 10^{12}$ Zellen/m ²)	1,20	>1,20
Stadium nach Durie und Salmon	I	III
Hämoglobin (g/dl)	$\geq 10,0$	<10,0
Thrombozyten ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	≥ 150	<150
Serumkalzium (mmol/l)	<2,60	>2,60
Serumkreatinin (mmol/l)	<120	>120
Serumalbumin (g/l)	>37	37
$\beta 2$ -Mikroglobulin (mg/l)	6	>6
Bence-Jones-Protein	nein	ja
CRP	normal	erhöht
LDH	normal	erhöht
Deletion am Chromosom 13	nein	ja
Thymidinkinase-Serumspiegel	normal	erhöht

1.8. Therapie

1.8.1. Allgemeines

In den vergangenen Jahren haben sich die Therapieoptionen für Patienten mit multiplem Myelom deutlich gebessert. Dazu hat besonders die Einführung der Hochdosischemotherapie mit anschließender autologer Transplantation peripherer Blutstammzellen in die Therapie beigetragen. Aber auch durch die Anwendung von Bisphosphonaten, Protease-Inhibitoren (Bortezomib) und immun-modulierenden Substanzen (Lenalidomide) sowie neuen Zytostatika konnte die Therapie verbessert werden.

Trotz dieser Fortschritte ist das MM bei den allermeisten Patienten unheilbar, die Therapie palliativ. Allein die allogene Stammzelltransplantation stellt für einzelne Patienten mit MM eine potentiell kurative Therapie dar, die jedoch mit erheblichen Risiken für die Patienten verbunden ist. Insbesondere die Graft- versus- host Erkrankung bedroht die Patienten und trägt zu der hohen Mortalität dieser Methode bei (Bensinger, Buckner et al. 1997).

Die Standardtherapie setzt sich zusammen aus der palliativen Chemotherapie und den supportiven Therapiemethoden zur Behandlung der Komplikationen. Die palliative Chemotherapie gliedert sich in die Induktionstherapie mittels konventioneller Chemotherapie und die HDCT (Abschnitt 1.8.5.). Zu den supportiven Therapien zählen die Strahlentherapie und die Gabe von Bisphosphonaten zur Behandlung von Osteolysen.

Neben diesen Standard-Therapieverfahren existieren eine Reihe neuer Therapieoptionen (Abschnitt 1.8.4.).

Eine vereinfachte Übersicht über die Möglichkeiten des therapeutischen Vorgehens in Abhängigkeit von Erkrankungsstadium und Ansprechen auf die Therapie gibt Abbildung 1.2.

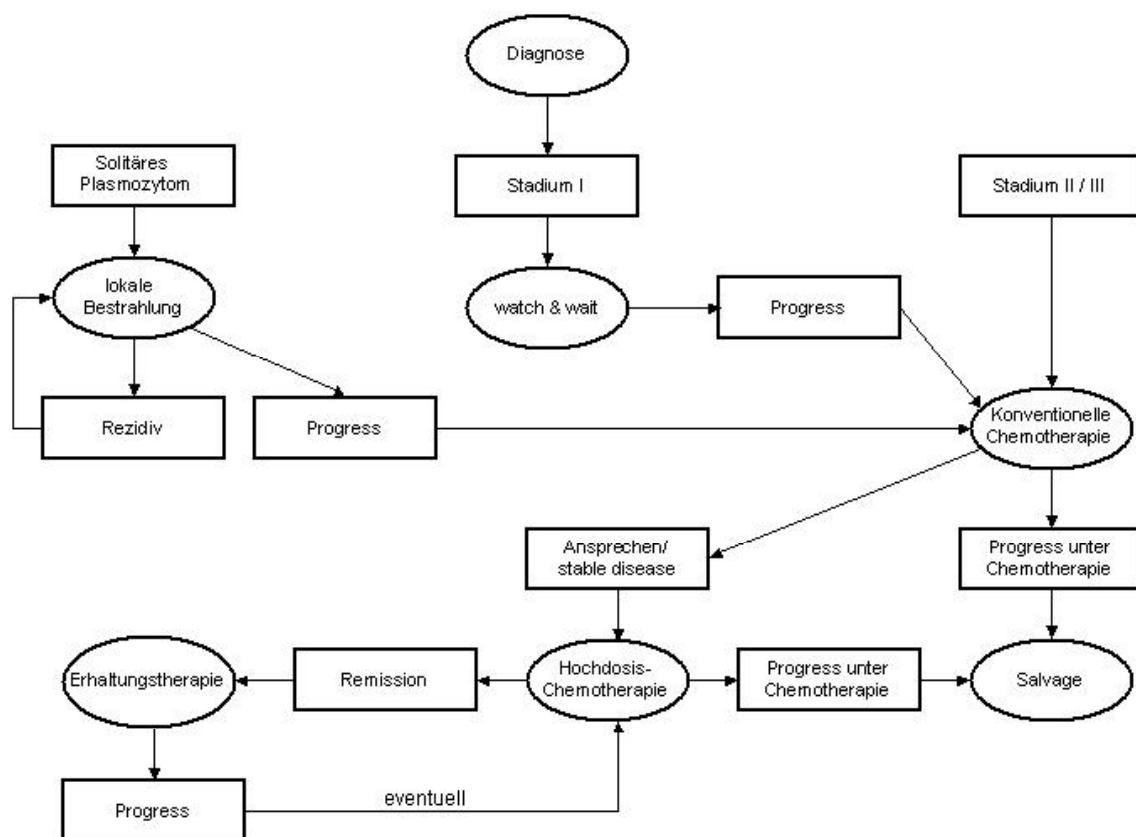


Abbildung 1.2.: Therapeutisches Vorgehen bei Patienten bis 65 Jahre

1.8.2. Strahlentherapie

Die Strahlentherapie zählt zu den Standardverfahren bei schmerzhaften und frakturgefährdenden Osteolysen (Bosch et Frias 1988). Wichtige Ziele der Strahlentherapie sind die Analgesie, Stabilisierung des Knochens bei Frakturgefährdung, konsolidierende Therapie nach Osteosynthese, Beseitigung paraossärer Weichteilmassen sowie palliative Halb- und Ganzkörperbestrahlung im Rahmen von Studien. Die Strahlentherapie stellt außerdem die Hauptsäule der Therapie solitärer Plasmozytome dar.

Das Bestrahlungsvolumen sollte den befallenen Knochen aufgrund des disseminierten Befalls möglichst vollständig umfassen, was jedoch wegen möglicher schwerer hämatologischer Toxizität nicht immer möglich ist. Bei Befall der Beckenknochen ist gelegentlich die Bestrahlung nur einer Beckenhälfte ausreichend. Sind Wirbelkörper befallen, wird der im konventionellen Röntgenbild sichtbare Befall einschließlich der angrenzenden Wirbelkörper bestrahlt. Liegt eine CT- oder MRT-Untersuchung vor, werden die nicht befallenen Wirbelkörper aus dem Bestrahlungsfeld herausgenommen, um die Knochenmarksreserve nicht unnötig zu beeinträchtigen.

Die am häufigsten verwendete Bestrahlungstechnik ist die der opponierenden Stehfelder mit energiereichen Photonen.

Das multiple Myelom des Knochens ist relativ strahlensensibel. Im Verlauf einer Strahlenbehandlung können auch große Myelommassen rasch und vollständig beseitigt werden. Eine Analgesie wird bereits bei einer Dosis von 10 bis 20 Gy bei konventioneller Fraktionierung von 2 Gy 5x/Woche erreicht, üblich sind aber auch höhere Dosen von 20 - 25 Gy. In verschiedenen Studien wurde bei ca. 20 % der Patienten durch die Radiotherapie eine vollständige Schmerz-beseitigung erreicht, bei weiteren 70 % kam es zu einer partiellen Schmerzreduktion. Nur bei etwa 10% der Patienten, meist denjenigen in sehr fortgeschrittenen Stadien, gelang keine Schmerzreduktion. Bei Bestrahlungen mit dem Ziel einer Stabilisierung des betroffenen Knochens oder zur Therapie eines solitären Plasmozytoms sollte eine Enddosis von 40–60 Gy erreicht werden.

Vermutungen, dass die Erhöhung der Gesamtdosis zu einer Reduktion der Rezidivwahrscheinlichkeit in diesem Knochenabschnitt führt, haben sich bisher nicht bestätigt (Mills et Wasserman 1987).

1.8.3. Chemotherapie

Es stehen zahlreiche zytostatische und zytotoxische Substanzen zur Verfügung, die die Proliferation der Myelomzellen hemmen und dadurch zu einem Krankheitsstillstand oder zu einer Remission führen können. Abhängig von der Situation des Patienten werden diese Zytostatika mit unterschiedlicher Zielsetzung in unterschiedlichen Kombinationen und Dosierungen eingesetzt.

Die Standard-Chemotherapie erfolgt stadien- und symptomorientiert. So ist bei MGUS, smoldering Myelom und im Stadium I meist eine abwartende Haltung mit lediglich symptomatischer Therapie angebracht. Therapieindikationen stellen das progrediente Myelom ab Stadium II und das Leichtkettenmyelom wegen der Gefahr der Niereninsuffizienz dar.

Am Beginn der Therapie steht meist eine konventionelle Chemotherapie. Neben dem Alter und dem Allgemeinzustand des Patienten entscheidet vor allem das Ansprechen des MM auf die konventionelle Chemotherapie über das weitere Procedere. Die Beurteilung des Ansprechens erfolgt nach den modifizierten Kriterien von Durie (Blade, Samson et al. 1998) (Kapitel 1.6., Tabelle 1.5.). Im Falle eines Progresses unter der konventionellen Chemotherapie besteht die Möglichkeit zur Durchführung einer Salvage- Therapie, beispielsweise mit einer Kombination aus Thalidomid und Dexamethason (Alexanian, Weber et al. 2003). Neuere Substanzen wie Lenalidomid sind geeignet, die Ansprechraten bei

einem Rezidiv deutlich zu erhöhen (Richardson, Blood et al. 2006; Richardson, Sonneveld et al. 2007).

Kommt es durch die konventionelle Chemotherapie zu einer Stabilisierung der Erkrankung oder einer partiellen oder kompletten Remission, so besteht die Option der Durchführung einer Hochdosis-Chemotherapie (HDCT) mit anschließender Transplantation autologer Blutstammzellen.

Nach der HDCT kann eine Erhaltungstherapie durchgeführt werden. Diese besteht aus der Gabe von Bisphosphonaten und eventuell Thalidomid.

1.8.3.1. Konventionelle Chemotherapie

Ab dem Stadium II besteht die Indikation für eine Induktionstherapie mittels konventioneller Chemotherapie. Als wirksame Substanzen in der Primärtherapie haben sich die Alkylantien Melphalan und Cyclophosphamid erwiesen. Diese werden häufig in Kombination mit Glukokortikoiden gegeben. Sie stellen insbesondere bei älteren Patienten, bei denen keine HDCT in Frage kommt, die Therapie der ersten Wahl dar. Die Rate des Ansprechens liegt bei 50-70%, die mittlere Remissionsdauer beträgt ca. zwei Jahre (Alexanian and Dimopoulos 1994) (Gregory, Richards et al. 1992). Vor allem das VAD- Protokoll ist anerkannt und hochwirksam (Anderson, Scarffe et al. 1995). Aufgrund der geringeren Stammzelltoxizität ist es vorteilhaft für die Patienten, bei denen eine spätere HDCT mit autologer Stammzelltransplantation angestrebt wird.

Daneben sind weitere Chemotherapie-Protokolle beschrieben worden, die in der konventionellen Chemotherapie des MM eingesetzt werden können. Eine Übersicht über bedeutende Chemotherapie-Protokolle gibt Tabelle 2.3.

1.8.3.2. Hochdosis-Chemotherapie mit anschließender Transplantation autologer Blutstammzellen

1.8.3.2.1. Prinzip der autologen Blutstammzelltransplantation bei multiplem Myelom

Die erhebliche Steigerung der Zytostatika- Dosis, die mit dem Konzept der HDCT mit anschließender Transplantation autologer Blutstammzellen erreicht wird, führt zu einer deutlichen Erhöhung der Remissionsraten und der mittleren Überlebensdauer. So konnten Attal et al. in einer Studie an 200 Myelompatienten eine Steigerung der 5-Jahres-Überlebensrate von 12% auf 52% durch Anwendung einer Hochdosistherapie und anschließender Stammzelltransplantation belegen (Attal, Harousseau et al. 1996). Die Durchführung einer HDCT ist daher bei möglichst vielen Patienten anzustreben. Auch ältere

Patienten über 65 Jahre scheinen in vergleichbarer Weise wie Jüngere von einer HDCT zu profitieren. (Siegel, Desikan et al. 1999; Sirohi, Powles et al. 2000). Dabei soll die Prognose um so besser sein, je früher die HDCT im Krankheitsverlauf eingesetzt wird (Attal, Harousseau et al. 1996).

Allerdings ist mit der Intensivierung der Chemotherapie auch eine langanhaltende Myelosuppression assoziiert, die ohne Gegenmaßnahmen eine hohe Mortalität zur Folge hätte. Um das Intervall dieser Myelosuppression nach hochdosierter Zytostatika- Gabe wesentlich zu verkürzen, erfolgt eine supportive Rücktransfusion von vor der HDCT gewonnenen Knochenmark- oder peripheren Blutstammzellen. So gelingt eine suffiziente und relativ komplikationsarme Wiederherstellung der Hämatopoese (Gale, Henon et al. 1992; Lowry et Tabbara 1992).

Bei Transplantation $>2,0 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg Körpergewicht kann mit einem regelrechten und schnellen Engraftment innerhalb von 14 Tagen gerechnet werden, bei Transplantation von $>5 \times 10^6$ /kg CD34+ Zellen/kg wird eine noch raschere hämatopoetische Rekonstitution berichtet (Bensinger, Appelbaum et al. 1995; Tricot, Jagannath et al. 1995). Unter Engraftment versteht man die Wiederansiedlung der Stammzellen im Stroma des Knochenmarks und die Rekonstitution der Hämatopoese (Craig, Turner et al. 1992) (Kessinger et Armitage 1991). In der Klinik spricht man von einem Engraftment, wenn die Patienten Blutwerte mit Leukozyten $>1000/\mu\text{l}$, Granulozyten $>500/\mu\text{l}$ und Thrombozyten $>20000/\mu\text{l}$ aufweisen. Dadurch gelingt es, die therapiebedingte Letalität auf 1-2% zu senken. Hämatopoetische Stammzellen werden einige Zeit vor der HDCT aus dem Knochenmark der Patienten ins periphere Blut „mobilisiert“. Diese peripheren Blutstammzellen (peripheral blood progenitor cells, PBPC) werden mit Hilfe eines Zellseparators gesammelt, kryokonserviert und nach der HDCT dem Patienten reinfundiert. Ein Maß für die Fähigkeit der Zellen zur Proliferation ist ihr Vermögen, auf Methylcellulose Zellkolonien (colony-forming units granulocyte-macrophage: CFU-GM) zu bilden. Ist diese Fähigkeit gering, so sind die Zellen für eine Transplantation ungeeignet und von der HDCT sollte abgesehen werden (Douay, Gorin et al. 1986).

Zur Konditionierung bei HDCT werden die Patienten mit konventioneller Chemotherapie vorbehandelt um die Tumormasse zu reduzieren (Abbildung 1.5.). Dadurch soll im Sinne eines in vivo purgings die Kontamination des Stammzellseparats mit Tumorzellen verringert werden. Das Ansprechen des Patienten auf die Konditionierungstherapie gibt Hinweise auf das zu erwartende Ansprechen auf die HDCT (Abbildung 1.2.).

Im Falle des Erreichens eines stabilen Erkrankungszustandes oder einer Remission schließt sich die Mobilisation autologer Stammzellen an. Diese Stammzellen werden kryokonserviert und nach der HDCT reinfundiert. Die in der konventionellen Chemotherapie eingesetzten Protokolle sind in Tabelle 2.3. wiedergegeben. Der zeitliche Ablauf der HDCT mit

anschließender Transplantation autologer Stammzellen ist schematisch in Abbildung 1.3. zusammengefasst.

Eine weitere Verbesserung der Überlebensrate kann nach Ergebnissen von Attal et al. durch die Tandem-Hochdosistherapie erreicht werden, bei der zwei Hochdosistherapien mit anschließender Stammzelltransplantation im Abstand von 3-6 Monaten durchgeführt werden (Attal, Harousseau et al. 2003).

1.8.3.2.2. Mobilisation peripherer Blutstammzellen

Hämatopoetische Blutstammzellen können prinzipiell aus Nabelschnurblut, dem Knochenmark oder aus peripherem Blut gewonnen werden. Die Gewinnung zirkulierender PBPC durch Leukapherese mittels Zellseparator ist heute das bevorzugte Verfahren, da es gegenüber der Zellentnahme aus dem Knochenmark einige Vorteile bietet: zur Entnahme ist keine Vollnarkose notwendig, sie ist auch im Falle einer Knochenmarksfibrose möglich und die Erholung der Hämatopoese erfolgt signifikant schneller (Haas, Hohaus et al. 1992; To, Roberts et al. 1992; Beyer, Schwella et al. 1995).

Im Rahmen der Mobilisation kann die Hämatopoese des Knochenmarks durch verschiedene Maßnahmen angeregt und der Anteil der CD34+ Zellen im peripheren Blut bis auf 10% angehoben werden (Bernard, Reiffers et al. 1985; Pettengell, Morgenstern et al. 1993; Jones, Jones et al. 1994; Gillespie et al. 1996). Zum einen kann durch den Einsatz von Zytostatika, die eine Panzytopenie bewirken, das Knochenmark zu gesteigerter Hämatopoese angeregt werden. Zum anderen besteht die Möglichkeit durch Einsatz von hämatopoetischen Wachstumsfaktoren wie Granulocyten- Kolonie- stimulierender- Faktor (G-CSF) oder Granulocyten/Monozyten- Kolonie- stimulierender- Faktor (GM-CSF), deren Wirksamkeit in der Literatur gut belegt ist, die Anzahl frei zirkulierender Stammzellen zu erhöhen (Arora, Burns et al. 2004).

Die Identifizierung der PBPC erfolgt mittels immunphänotypischer Bestimmung des CD34 Oberflächenantigens (Civin, Strauss et al. 1984; Andrews, Singer et al. 1986; Strauss, Brovall et al. 1986). Die Anzahl der Blutstammzellen im peripheren Blut kann durchflusszytometrisch bestimmt werden (Johnsen, Baech et al. 1999). Im Nabelschnurblut des Neugeborenen sind 0,8-1,2% der Leukozyten CD34 positiv (+), im Knochenmark des Erwachsenen sind CD34+ Zellen mit 1-4% unter den kernhaltigen Zellen vertreten. Die Anzahl der CD34+ Zellen im peripheren Blut ist bei gesunden Erwachsenen unter Ruhebedingungen („steady state“) mit 0,01-0,04% der Leukozyten vergleichsweise gering.

Die Kombination aus Chemotherapie und Wachstumsfaktoren hat sich als effiziente Methode der Mobilisation erwiesen und stellt heute das Standardverfahren dar. Durch diese gelingt

bei der Mehrzahl der Patienten die Gewinnung eines suffizienten Stammzelltransplantats von $>2,0 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg Körpergewicht.

Die am häufigsten zur Mobilisation verwendete Chemotherapie ist ein Protokoll aus hochdosiertem Cyclophosphamid, welches in einer Dosierung von $2,5-7 \text{ g/m}^2$ eingesetzt wird (Hawkins, Horvath et al. 1996; Bensinger, Appelbaum et al. 1995; Tricot, Jagannath et al. 1995; Goldschmidt, Hegenbart et al. 1996). Die Kombination verschiedener Chemotherapeutika kann die Stammzellausbeute möglicherweise steigern. So zeigte das IEV- Regime (Ifosfamid, Epirubicin, Etoposid) in Kombination mit G-CSF eine gute Wirksamkeit im Rahmen der Stammzellmobilisation (Demirer, Buckner et al. 1996). Schwella et al. konnten zeigen, dass sich trotz ihrer Stammzelltoxizität auch melphalan- haltige Regime zur Mobilisation eignen (Schwella, Kingreen et al. 1997). Beelen et al. konnten bei 300 gesunden Spendern eine Abhängigkeit der Stammzellausbeute von der G-CSF- Dosis nachweisen (Beelen, Ottinger et al. 2002). Kröger et al. konnten anhand eines Kollektivs von 50 gesunden Spendern zeigen, dass eine Verteilung der G-CSF- Tagesdosis auf zwei Einzeldosen ebenfalls die Ausbeute der CD34+ Zellen bei der ersten Separation signifikant steigert (Kroger, Renges et al. 2000). Dagegen konnten Martin-Murea et al. bei 120 Myelompatienten keine Verbesserung der Ausbeute durch eine Dosisescalation belegen (Martin-Murea, Voso et al. 1998).

Durch die Mobilisation kann die Zahl der zirkulierenden CD34+ Zellen von $1-4/\mu\text{l}$ im „steady-state“ auf bis zu $1000/\mu\text{l}$ ansteigen und einige Tage deutlich über dem Normwert bleiben.

Als prädiktiver Parameter für den Ertrag an CD34+ Zellen wurde die Anzahl der zirkulierenden CD34+ Zellen im peripheren Blut vor der Mobilisations-Therapie bei gesunden Spendern diskutiert (Passos-Coelho, Braine et al. 1995; Fruehauf, Schmitt et al. 1999).

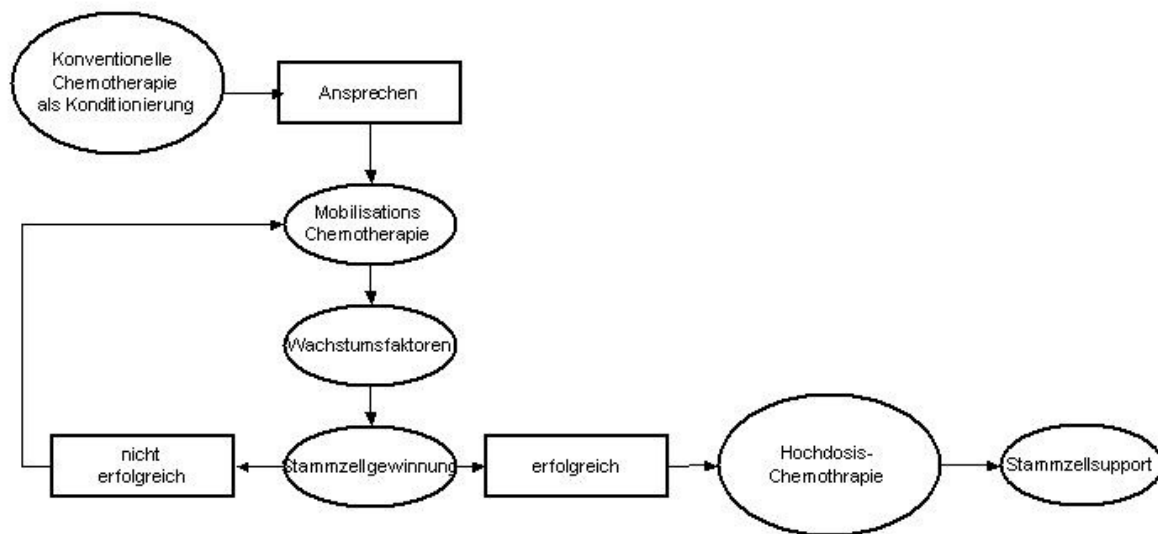


Abbildung 1.3.: Therapeutisches Vorgehen bei der Hochdosis-Chemotherapie mit anschließender Transplantation autologer Stammzellen

1.8.4. Bisphosphonate

Bisphosphonate haben sich in der Therapie des MM etabliert. Sie hemmen die Aktivität der Osteoklasten und vermindern deren Anzahl durch Induktion von Apoptose. Berenson et al. konnten eine Reduktion der Osteolysen um 24% durch Anwendung von Bisphosphonaten zeigen (Berenson, Lichtenstein et al. 1996). Zahlreiche Studien konnten außerdem belegen, dass Bisphosphonate wie Pamidronat und insbesondere Zoledronat in präklinischen Modellen neben dieser Hauptwirkung weitere positive Wirkungen haben. So konnten Croucher et al. in Tierexperimenten eine signifikante Reduktion der Tumorlast, der Osteolysen und der Angiogenese belegen (Croucher, De Hendrik et al. 2003). Klinische Studien der Arbeitsgruppe um Berenson geben darüber hinaus Hinweise auf eine Verlängerung der mittleren Überlebensdauer durch die Therapie mit Bisphosphonaten (Berenson, Lichtenstein et al. 1998).

1.8.5. Neue Therapien

1.8.5.1. Thalidomid und Analoga

Seit einigen Jahren wird Thalidomid und dessen Analoga in der Therapie des MM eingesetzt. Thalidomid hat antiangiogenetische und immunstimulierende Wirkung (D'Amato, Loughnan et al. 1994; Davies, Raje et al. 2001; Dredge, Marriott et al. 2002). Es hat sich vor allem in der Erhaltungstherapie nach HDCT und als Salvage- Therapie bei therapierefraktärem MM als wirksam erwiesen. Attal et al. konnten eine signifikante Verlängerung des progressfreien Überlebens der Patienten durch Gabe einer täglichen Dosis von 100mg Thalidomid und Bisphosphonat gegenüber der alleinigen Gabe von Bisphosphonat zeigen (Attal, Harousseau et al. 2006). Bei therapierefraktärem oder progredientem MM zeigte sich eine signifikante Erhöhung der Remissionsraten und der Überlebenszeit durch Gabe von Thalidomid (Alexanian, Weber et al. 2003). In einer Studie von Rajkumar et al. an 207 Patienten mit neu diagnostiziertem MM zeigte der Vergleich zwischen Dexamethason-Monotherapie und einer Kombination aus Dexamethason und Thalidomid eine signifikant erhöhte Ansprechrate durch Thalidomid (63% vs. 41%) (Rajkumar, Blood et al. 2006). Allerdings war durch Thalidomid auch die Rate toxischer Nebenwirkungen signifikant erhöht.

Derzeit wird die dem Thalidomid verwandte Substanz Lenalidomid in Studien hinsichtlich der Wirksamkeit bei MM getestet. Bei günstigerem Nebenwirkungsprofil scheint eine signifikant bessere Wirksamkeit gegenüber Thalidomid zu bestehen (Kalmadi, Baz et al. 2007).

1.8.5.2. Proteasomeninhibitoren

Bortezomib ist die erste Substanz aus der neuen Gruppe der Proteasomeninhibitoren. Durch Inhibition des 26s Proteasoms werden die onkogenen Effekte von NF κ B durch Hemmung des Abbaus von I κ B reduziert. (Adams, Palombella et al. 1999). Dadurch wird die Transkription der für IL6 codierenden Gene vermindert (Chauhan, Uchiyama et al. 1996). Untersuchungen zeigen, dass NF κ B nicht das einzige Target von Bortezomib ist. Es konnte gezeigt werden, dass Bortezomib an der Downregulation von Genen beteiligt ist, die für IGF1 codieren und in resistenten Myelomzellen direkt Apoptose induziert (Mitsiades, Mitsiades et al. 2003). Spisek et al. konnten zeigen, dass Bortezomib die über die dendritische Zellen vermittelte Immunantwort steigert (Spisek, Charalambous et al. 2007). Andererseits deuten Untersuchungen von Kukreja et al. darauf hin, dass Bortezomib die Interaktion zwischen dendritischen Zellen und Tumorzellen stört und so das klonogene Wachstum hemmt (Kukreja, Hutchinson et al. 2007).

In klinischen Studien konnte die Wirksamkeit von Bortezomib in der Therapie von Patienten mit rezidivierendem oder therapierefraktärem MM belegt werden. Sowohl die Ansprechrates als auch die Dauer einer erreichten Remission konnten durch Gabe von Bortezomib deutlich gesteigert werden (Richardson, Barlogie et al. 2003; Richardson, Sonneveld et al. 2005; Richardson, Sonneveld et al. 2007).

1.8.6. Zielsetzung

Wie in Abschnitt 1.8.3. dargelegt, stellt die Kombination aus konventioneller Chemotherapie und nachfolgender Hochdosistherapie mit autologem Stammzellersatz für Patienten bis 65 Jahre die Therapie der Wahl dar.

Ist es bei Patienten nicht möglich, eine ausreichende Zahl von Stammzellen zu sammeln, so bleibt diesen die erfolgversprechende Therapieoption einer HDCT versagt. In der Literatur werden als Gründe für eine mangelnde Mobilisierbarkeit sowohl patientenabhängige Parameter als auch die Art und das Ausmaß der Vortherapie diskutiert.

Als biologische Faktoren mit möglichem Einfluss auf die Mobilisierbarkeit peripherer Blutstammzellen werden insbesondere das Alter und das Geschlecht diskutiert (Haas, Mohle et al. 1994; Weaver, Schwartzberg et al. 1997; Perea, Sureda et al. 2001; Morris, Siegel et al. 2003).

Bezüglich der Vortherapie finden sich in der Literatur vor allem Hinweise auf den negativen Einfluss der Chemotherapie auf die Mobilisierbarkeit peripherer Blutstammzellen.

Besonders die alkylierenden Substanzen, allen voran Melphalan, werden aufgrund ihrer Stammzelltoxizität mit schlechten Mobilisationsergebnissen in Verbindung gebracht (Goldschmidt, Hegenbart et al. 1997; Kroger, Zeller et al. 1998). Außerdem ist der Einfluss der Bestrahlung auf die Mobilisierbarkeit Gegenstand kontroverser Diskussionen. Während einige Autoren einen signifikanten Einfluss der Bestrahlung nachweisen konnten (Goldschmidt, Hegenbart et al. 1997), gelang dieses in anderen Untersuchungen nicht (Dreger, Kloss et al. 1995; Drake, Ranaghan et al. 1997).

In der Literatur finden sich aber bislang nur wenige Arbeiten, die quantitative Aussagen über den Einfluss der Bestrahlung machen. Eine grobquantitative Analyse findet sich bei Kobbe et al. Allerdings wurden hier nur die Daten relativ weniger Patienten analysiert (Kobbe, Sohngen et al. 1999).

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, den möglichen Einfluss der Bestrahlungsdosis auf die Mobilisierbarkeit von Stammzellen nachzuweisen. Außerdem soll eine mögliche Korrelation zwischen dem Volumen bestrahlten hämatopoetischen Knochenmarks und der Ausbeute an CD34+ Zellen/kg Körpergewicht bei der ersten Separation quantitativ untersucht werden.

Hierbei sollen bestimmte hämatotoxische, patienten- und krankheitsspezifische Parameter untersucht und in der multivariaten Analyse berücksichtigt werden.

2. Patienten und Methoden

2.1. Patientenkollektiv

128 Patienten mit Plasmozytom wurden in die vorliegende Untersuchung aufgenommen. Die Diagnose erfolgte nach den internationalen Standardkriterien von Durie (Tabelle 1.4.). Die Stadieneinteilung erfolgte nach Durie und Salmon (Durie, Salmon, et al. 1975). Alle 128 Patienten waren für die Durchführung einer HDCT mit autologer Stammzelltransplantation vorgesehen. Die Mobilisationstherapie zur Gewinnung peripherer Blutstammzellen fand im Zeitraum von Januar 1996 bis Dezember 2004 an zwei Transplantationszentren statt. Die Rekrutierung erfolgte im Klinikum der Philipps-Universität Marburg (Klinik für Innere Medizin mit Schwerpunkt Hämatologie/Onkologie/ Immunologie, Direktor: Prof. Dr. A. Neubauer) und im Universitätsklinikum Charité, Campus Virchow-Klinikum, Humboldt-Universität Berlin (Abteilung Innere Medizin mit Schwerpunkt Hämatologie/Onkologie, Direktor: Prof. Dr. D. Huhn). In beiden Transplantationszentren wurden ausschließlich Patienten im Stadium II und III nach Salmon und Durie in die Behandlung mit Mobilisations-Chemotherapie, nachfolgender Hochdosistherapie und anschließender autologer Stammzelltransplantation eingeschlossen. 52 Patienten (40,6%) wurden im Klinikum der Universität Marburg, 76 Patienten (59,4%) im Universitätsklinikum Charité, Berlin behandelt.

2.2. Datenerhebung

Anhand der Patientenakten erfolgte die retrospektive Datenerhebung. Es wurden sämtliche, auch wiederholte, Versuche einer Mobilisations- Chemotherapie dokumentiert. In die statistische Auswertung wurde ausschließlich die Ausbeute CD34+ Zellen/kg Körpergewicht und Anzahl CD34+ Zellen/ μ l peripheren Blutes am Tag der ersten Apherese im Anschluss an die erste Mobilisations-Chemotherapie einbezogen. Von 128 wurden 114 (67 Männer und 47 Frauen) Patienten in die statistische Auswertung einbezogen. Der Ausschluss erfolgte bei 7 Patienten aufgrund der Verwendung eines unterschiedlichen Wachstumsfaktors (GM-CSF anstelle von G-CSF) und bei weiteren 7 Patienten aufgrund unvollständiger Daten (Tabelle 2.1.).

Tabelle 2.1.: Anzahl der ein- und ausgeschlossenen Patienten und Ausschlussgrund

Anzahl eingeschlossener Patienten	114
Anzahl ausgeschlossener Patienten	14
- aufgrund inkompletter Daten	7
- aufgrund der Verwendung von GM-CSF als Wachstumsfaktor	7
gesamt	128

2.3. Patientencharakteristika

Das Patientenkollektiv wurde in die beiden Gruppen der bestrahlten und unbestrahlten Patienten eingeteilt, um die Auswirkungen der strahlentherapeutischen Vorbehandlung auf die Mobilisierbarkeit peripherer Blutstammzellen zu untersuchen. Es wurde geprüft, ob die Gruppen sich bezüglich der übrigen möglichen Einflussfaktoren auf die Mobilisierbarkeit unterscheiden. Tabelle 2.2. gibt einen Überblick über klinische und biologische Parameter der Patienten sowie über deren Verteilung in den beiden Patientengruppen. Ein p-Wert des Mann-Whitney U-Tests $>0,05$ zeigte, dass die beiden Gruppen bezüglich keines Parameters signifikant unterschiedlich sind.

2.4. Vorangegangene Chemotherapie

Alle Patienten wurden vor der Mobilisation und Separation der Stammzellen zum Zwecke der Minderung der Tumorlast mit konventioneller Chemotherapie behandelt. Die Zusammensetzungen und Standarddosierungen der verwendeten Chemotherapie-Regime sind in Tabelle 2.3. dargestellt. Die vorliegende Studie teilt die Patienten in drei Chemotherapie-Gruppen mit steigender Stammzelltoxizität ein (Tabelle 2.4.). Dieser Einteilung wurden Literaturangaben zur Stammzelltoxizität der verwendeten Chemotherapeutika zugrunde gelegt (Kroger, Zeller et al. 1998; Jerjis, Croockewit et al. 2000; Perea, Sureda et al. 2001).

Tabelle 2.2.: Patientencharakteristika und Krankheitsstatus

	alle Patienten	bestrahlte Patienten	unbestrahlte Patienten	p-Wert
Anzahl der Patienten	114	53	61	
Alter (Jahre)				
Median	53	53	53	0,811 ²
Range	33-68	34-66	33-68	
Geschlecht (n= Anzahl der Patienten)				
männlich	67	33	34	0,48 ³
weiblich	47	20	27	
Krankheitsstadium nach Salmon und Durie¹ (n= Anzahl der Patienten)				
Stadium I	11	4	7	-
Stadium II	31	7	24	
Stadium III	69	40	29	
nicht evaluierbar	3	1	2	
Zeitraum Diagnose-Mobilisation				
<20 Mon.	93	41	52	0,28 ³
≥20 Mon.	21	12	9	
Ansprechen auf die zytostatische Vortherapie (n = Anzahl der Patienten)				
PR ⁴	63	27	36	-
SD ⁴	20	10	10	
PD ⁴	4	2	2	
CR ⁴	0	0	0	
nicht evaluierbar	27	14	13	

¹ zum Zeitpunkt der Diagnose, ²U-Test nach Mann-Whitney, ³Chi-Quadrat-Test

⁴Definitionen siehe Tabelle 1.5., Chi-Quadrat-Test aufgrund zu geringer Patientenzahlen nicht möglich

Tabelle 2.3.: Die verwendeten Chemotherapie-Regime

Schema	Substanz	Dosis	Intervall
VAD			
	Vincristin	0.4 mg/d	Tag 1-4
	Adriamycin	9 mg/m ² /d	Tag 1-4
	Dexamethason	40 mg/d	Tag 1-4, 9-12, 17-20
VID			
	Vincristin	0.4 mg/d	Tag 1-4
	Idarubicin	12 mg/m ² /d	Tag 1
	Dexamethason	40 mg/d	Tag 1-4, 9-12, 17-20
VACD			
	Vincristin	0.4 mg/d	Tag 1-4
	Adriamycin	9 mg/m ² /d	Tag 1-4
	Cyclophosphamid	500 mg/m ² /d	Tag 1-4
	Dexamethason	40 mg/d	Tag 1-4, 9-12, 17-20
MP			
	Melphalan	15 mg/m ² /d	Tag 1-4
		100 mg/m ² /d	Tag 1-4
TCED			
	Thalidomid	400 mg/d	Tag 1-28
	Cyclophosphamid	400 mg/m ² /d	Tag 1-4
	Etoposid	40 mg/m ² /d	Tag 1-4
	Dexamethason	40 mg/d	Tag 1-4
Cyclophosphamid			
	Cyclophosphamid	1000 mg/m ² /d	Tag 1
TAD			
	Thalidomid	400 mg/d	Tag 1-28
	Adriamycin	9 mg/m ² /d	Tag 1-4
	Dexamethason	40 mg/d	Tag 1-4, 9-12, 17-20
CHOP			
	Cyclophosphamid	750 mg/m ² /d	Tag 1
	Doxorubicin	50 mg/m ² /d	Tag 1
	Vincristin	2 mg/m ² /d	Tag 1
	Prednison	100 mg/m ² /d	Tag 1-5

Tabelle 2.4.: Chemotherapie- Gruppen gemäß der hämatopoetischen Stammzelltoxizität

Gruppe	Vortherapie	Toxizität
I	≤5 Zyklen, ohne Melphalan	gering
II	>5 Zyklen, ohne Melphalan	mittel
III	jede Melphalan- Gabe in Vor- oder Mobilisations-therapie	hoch

2.5. Strahlentherapeutische Vorbehandlung

Von 114 analysierten Patienten wurden 53 (47 %) aufgrund schmerzhafter Osteolysen oder zur Erhaltung der Stabilität eines frakturgefährdeten Knochens im Zeitraum vor der Mobilisations-Chemotherapie lokal bestrahlt. 61 (53 %) Patienten erhielten im Rahmen der vorangegangenen Therapie keine Bestrahlung. Der Prozentanteil bestrahlten hämatopoetischen Knochenmarks am Gesamtvolumen des hämatopoetischen Knochenmarks des jeweiligen Patienten wurde anhand der Bestrahlungsdaten des Patienten unter Anwendung der in Tabelle 2.5. dargestellten Einteilung von Ellis berechnet. Ellis ermittelte die prozentuale Verteilung des blutbildenden Knochenmarks in den einzelnen Knochen anhand von Autopsie-Befunden (Ellis 1961).

Tabelle 2.5.: Lokalisation der Hämatopoese beim Erwachsenen:

Prozentuale Verteilung des blutbildenden Knochenmarks nach Ellis (Ellis 1961)*

Caput		13,1 %
	Cranium	12 %
	Mandibula	1,1 %
Obere Extremität		8,3 %
	Humeri	2,0 %
	Scapulae	4,8 %
	Claviculae	1,5 %
Sternum		2,3 %
Costae		7,9 %
Vertebrae		42,3 %
	V. cervicales	3,4 %
	V. thoracales	14,1 %
	V. lumbales	10,9 %
	V. sacrales	13,9 %
Untere Extremität		26,1 %
	Os coxae	22,0 %
	Femura	4,0 %

*bei paarig angelegten Knochen ist jeweils die Summe der Knochenmarkvolumina beider Knochen angegeben

2.6. Blutstammzellmobilisation

Alle Patienten erhielten eine Mobilisations-Chemotherapie mit dem Ziel der anschließenden Separation der Zellen. Die Protokolle der verwendeten Mobilisations-Chemotherapie-Regime und die Anzahl der behandelten Patienten sind in Tabelle 2.6. wiedergegeben. Einen bis einige Tage nach der Mobilisations-Chemotherapie erhielten alle Patienten subkutan G-CSF (granulocyte colony stimulating factor, Neupogen®, Amgen, München) in einer täglichen Dosis von 2x5 oder 1x5 µg/kg Körpergewicht. Die Gabe von G-CSF wurde in gleicher Dosierung bis zum Ende der Leukapheresen weitergeführt. Im Median erhielten die Patienten G-CSF über einen Zeitraum von 10 Tagen (range 4-19 Tage).

Tabelle 2.6.: Die verwendeten Mobilisations- Chemotherapie- Regime

Schema	Substanz	Dosis	Intervall	Patientenzahl
Cyclophosphamid	Cyclophosphamid	2-6 g/m ² /d	Tag 1	96
IEV	Vincristin	2 mg absolut	Tag 1	6
	Ifosfamid	4000 mg/m ² /d	Tag 1	
	Etoposid	500 mg/m ² /d	Tag 1	
DexaBEAM (Schmitz, Pfister et al. 2002)	Dexamethason	3x8 mg/m ² /d	Tag 1-5	4
	Carmustin	60 mg/m ² /d	Tag 2	
	Cytarabin	2x75-100 mg/m ² /d	Tag 4-7	
	Etoposid	75-100 mg/m ² /d	Tag 4-7	
	Melphalan	15-20 mg/m ² /d	Tag 3	
CED (Moehler, Neben et al. 2001)	Cyclophosphamid	400 mg/m ² /d	Tag 1-4	4
	Etoposid	40 mg/m ² /d	Tag 1-4	
	Dexamethason	40 mg/d	Tag 1-4	
Ifosfamid	Ifosfamid	4mg/m ² /d	Tag 1-3	3
MP (Alexanian, Haut et al. 1969)	Melphalan	15 mg/m ² /d	Tag 1	1
	Prednisolon	100 mg/m ² /d	Tag 1-4	

2.7. Analyse der Anzahl zirkulierender Blutstammzellen

Für die Bestimmung der Anzahl zirkulierender PBSC diente der Nachweis des CD34+-Antigens auf der Oberfläche der Leukozyten. Diese Analysen wurden im FACS- Labor (Leiter: Dr. Cornelia Brendel, Abt. Innere Medizin mit Schwerpunkt Hämatologie/Onkologie und Immunologie, Klinikum der Philipps-Universität, Marburg) bzw. im Labor für Durchflusszytometrie (Prof. Dr. Serke, Abt. Innere Medizin mit Schwerpunkt Hämatologie/Onkologie, Universitätsklinik Charité, Campus Virchow-Klinikum, Humboldt-Universität, Berlin) durchgeführt. Die analytischen Verfahren werden bei Serke et al. und Silvestri et al. beschrieben (Silvestri, Banavali et al. 1992; Serke, Beyer et al. 1998).

2.8. Planung und Durchführung der Leukapherese

Die Zahl der zirkulierenden PBSC wurde nach Durchschreiten des Nadirs oder bei Wiederanstieg der Leukozyten auf $>1000/\mu\text{l}$ engmaschig durchflusszytometrisch bestimmt. Die Leukapherese wurde frühestens ab einem Gehalt von 10 CD34+ Zellen/ μl peripheren Blutes begonnen (Schwella, Siegert et al. 1995). Da es durch die Separation der PBSC zu einer Erniedrigung der Thrombozytenzahlen und des Hb-Wertes kommt, wurden vor Beginn der Separation Werte von $\text{Hb} > 8\text{g/dl}$ und Thrombozyten $>100000/\mu\text{l}$ angestrebt. Zur Separation wurde das Blut über periphere Venen oder einen doppelläufigen zentralvenösen Zugang entnommen und durch einen der folgenden Zellseparatoren prozessiert: Fresenius AS104® oder COM TEC® (Fresenius Hemocare, Bad Homburg, Deutschland), COBE Spectra® (Gambro BCT, Planegg-Martinsried, Deutschland) und Baxter Amicus® (Baxter, Unterschleissheim, Deutschland) (Padley, Strauss et al. 1991; Serke, Beyer et al. 1998). Während der üblichen Dauer einer Separation von 150–300 min. wurde im Median ein Blutvolumen von 11 Litern (6–16 l) bei einem Blutfluss von 40–70 ml/min prozessiert.

2.9. Qualitätskontrolle der Apherese- Produkte

Zur Qualitätskontrolle eines jeden Apheresates wurden die Zelldosen von MNC und CD34+ Zellen/kg Körpergewicht des entsprechenden Patienten bestimmt. Zum Ausschluss mikrobieller Verunreinigungen wurden aerobe und anaerobe Kulturen angelegt.

2.10. Kryokonservierung der Apheresate

Vor der Kryokonservierung wurden die Apherese -Produkte mit einem Volumen von ca. 70 ml vorgekühlt und mit 30 ml 33,3 % gekühlter Dimethylsulfoxid- Lösung (CryoSure®-DMSO, WAK-Chemie Medical GmbH, Steinbach, Deutschland) versetzt. Anschließend wurden die Stammzellprodukte in einem Einfriergerät (Cryo 10®, Messer Griesheim, Düsseldorf, Deutschland) zusammen mit 4-5 Pilotröhrchen pro Produkt automatisch-kontrolliert über einen Zeitraum von 85 Minuten auf eine Temperatur von -101 °C abgekühlt und danach in einen Behälter mit flüssigem Stickstoff (-185 °C) eingelagert.

Einige Tage nach der Kryokonservierung wurden in einem aufgetauten Pilotröhrchen zur Bestimmung der Proliferationsfähigkeit und Vitalität (Trypanblau- Färbung) der gewonnenen Zellen Kolonie- Assays (colony forming units granulocyte macrophage, CFU-GM) auf Methylcellulose angesetzt. Dadurch konnte die Gesamtzahl der CFU-GM jedes Produktes und die Zahl der CFU-GM/kg Körpergewicht des jeweiligen Patienten ermittelt werden (Schwella et Huhn 1998).

2.11. Auswertung

2.11.1. Software und Zielvariablen

Die statistischen Analysen wurden mit dem Statistikprogramm SPSS®, Version 11.5.1 (SPSS Inc., USA) durchgeführt. Als Signifikanzniveau wurde $\alpha=0,05$ festgelegt. Dem explorativen Charakter der Untersuchung entsprechend wurde keine α -Korrektur für multiples Testen durchgeführt. Es werden nominale p-Werte angegeben.

Von einer Tendenz wird ausgegangen, wenn $p \leq 0,1$ ist.

Die Ausbeute der CD34+ Zellen/kg Körpergewicht am Tag der ersten Apherese wurde bei der Analyse prädiktiver Faktoren für Mobilisation und Separation von PBSC als Zielvariable festgelegt.

Die statistischen Analysen wurden zusätzlich mit der Anzahl der CD34+ Zellen/ μ l peripheren Blutes am Tag der ersten Apherese als Zielvariable durchgeführt.

Die Ergebnisse dieser Analysen werden im Ergebnisteil dieser Arbeit zur Verbesserung der Übersichtlichkeit nicht vollständig dargestellt. Nur Abweichungen von den dargestellten Ergebnissen der ersten Zielvariablen werden beschrieben.

Die Ergebnisse der Analysen, bei denen GM-CFU/kg Körpergewicht bei der ersten Separation als Zielvariable dient, werden gesondert diskutiert.

2.11.2. Deskriptive Statistik

Es erfolgte zunächst eine allgemeine statistische Beschreibung der erfassten Parameter. Dabei wurden die Häufigkeiten, der Median und der Range der einzelnen klinischen und biologischen Parameter ermittelt und für die Gesamtgruppe und zusätzlich für die Gruppen der bestrahlten und unbestrahlten Patienten getrennt dargestellt. Wünschenswert ist, dass die einzelnen klinischen und biologischen Parameter sich zwischen bestrahlten und unbestrahlten Patienten nur unwesentlich unterscheiden. Ein echter Nachweis lässt sich mit den üblichen statistischen Signifikanztests nicht erbringen. Als Hinweis dafür wurde ein p-Wert $>0,05$ betrachtet (2.9.3.2.).

2.11.3. Graphische Darstellungen

2.11.3.1. Box- und Whisker- Plot-Darstellung

Eine Form der graphische Darstellung von Verteilungen die besonders gebräuchlich ist bei nicht-normalverteilten Stichproben, sind Box- und Whisker- Plots (Williamson, Parker et al. 1989). In ihnen werden insbesondere Symmetrien bzw. Asymmetrien in der Verteilung hervorgehoben. In der Standardform für Box-Plots repräsentiert der Querstrich in der Mitte der Box den Median. Die Box wird begrenzt durch die 25% und 75% Quartile. Ausreißer, werden gesondert abgebildet.

Die meisten Häufigkeitsverteilungen besitzen eine hohe Dichte von Werten in der Mitte und streuen mehr oder weniger in ihren Randbereichen. In der Praxis benötigt man daher zumeist eine Darstellung, die zeigt, wo das Zentrum einer Verteilung liegt und wie weit links und rechts dieses Zentrums sich ein Hauptteil der Daten streut. Häufig beinhaltet eine empirische Verteilung sog. Ausreißer, d. h. Werte, die so hoch oder so niedrig liegen, dass die Benutzung von Minimum und Maximum, die dann auch gleich Ausreißer sind, das Gesamtbild verfälschen.

2.11.3.2. Streudiagramme

Bei zwei quantitativen Merkmalen werden Streudiagramme erstellt, in die die Regressionsgerade zur Verdeutlichung des linearen Zusammenhangs eingezeichnet wird.

2.11.4. Univariate Analyse

In der univariaten Analyse werden die unabhängigen Variablen einzeln auf einen statistisch signifikanten Zusammenhang mit der Zielvariablen untersucht. Je nach Art der unabhängigen Variablen kommen dabei verschiedene statistische Verfahren zur Anwendung.

2.11.4.1. Univariate lineare Regression

Ziel der univariaten linearen Regression ist es, eine lineare Beziehung zwischen einer abhängigen und einer unabhängigen kontinuierlichen Variablen, z.B. Alter der Patienten, festzustellen. Voraussetzung für die univariate lineare Regression ist die Normalverteilung der Zielvariablen. Eine hinreichende Normalverteilung wurde angenommen, wenn der Kolmogorov- Smirnov- Test (2.9.3.2.) ein $p > 0,05$ ergab. Bei nicht hinreichender Normalverteilung wurde eine logarithmische Transformation durchgeführt.

2.11.4.2. Kolmogorow- Smirnow- Anpassungstest

Der Kolmogorow- Smirnow- Anpassungstest ist ein nichtparametrischer Test auf Übereinstimmung einer empirischen Häufigkeitsverteilung und einer theoretischen Wahrscheinlichkeitsverteilung. Er kann genutzt werden um zu testen, ob die untersuchte Stichprobe einer bestimmten Verteilung folgt. In der vorliegenden Arbeit wurde der Test genutzt, um die Ausgangsdaten auf hinreichende Normalverteilung zu prüfen (Sachs 2004).

2.11.4.3. U-Test nach Mann und Whitney

Der U-Test nach Mann und Whitney ist ein Test, der dazu dient, einen Zusammenhang zwischen einer zweistufigen nominalskalierten Variablen und einer mindestens ordinalskalierten Variablen zu testen. Auch der Unterschied zwischen zwei unabhängigen Stichproben hinsichtlich der ordinalskalierten Variablen kann mit seiner Hilfe untersucht werden. In der vorliegenden Arbeit wurden kategoriale Variablen mit nur zwei Kategorien, (z.B. Geschlecht der Patienten) unter Anwendung des U-Test nach Mann und Whitney auf ihren Einfluss auf die Zielvariablen untersucht. Einige kontinuierliche Variablen wurden anhand des Medians dichotomisiert. Die resultierenden zwei Kategorien mit jeweils nahezu der gleichen Anzahl an Patienten bildeten die beiden Gruppen für die jeweilige Zielvariable, die mit dem U-Test nach Mann und Whitney auf Unterschiedlichkeit hin untersucht wurde. Um den Einfluss der Bestrahlung auf die Zielvariablen genauer zu untersuchen, wurde

zusätzlich die Verteilung in den Gruppen "bestrahlte" versus "nicht bestrahlte" Patienten bezüglich weiterer möglicher Einflussfaktoren wie klinische und biologische Parameter (Tabelle 2.2.) oder der Vortherapien untersucht (Bortz 2005).

2.11.4.4. H-Test nach Kruskal und Wallis

Der H-Test nach Kruskal und Wallis ist ein nichtparametrisches Verfahren zum Vergleich der Mittelwerte mehrerer Stichproben. Voraussetzungen für den H-Test sind unabhängige Stichproben, eine stetige Verteilung oder mindestens ordinal- skalierte Daten. Im Fall von nur 2 Gruppen ist er mit dem U-Test nach Mann und Whitney identisch. Der H-Test nach Kruskal und Wallis wurde in der vorliegenden Arbeit bei kategorialen Variablen mit mehr als zwei Kategorien (z.B. Chemotherapie-Gruppen I-III) benutzt (Bortz 2005).

2.11.4.5. Chi- Quadrat-Test nach Pearson

Um den Zusammenhang der Bestrahlung mit dichotomen Variablen, wie dem Geschlecht oder dem am Median dichotomisierten Zeitraum Diagnose-Mobilisation zu untersuchen, wurde der Chi- Quadrat-Test nach Pearson verwendet.

Er dient dem Vergleich von Häufigkeiten von binären Merkmalen aus zwei unabhängigen Stichproben. Durch Vergleich der erwarteten Häufigkeiten mit den beobachteten Häufigkeiten wird eine Prüfgröße errechnet, die asymptotisch eine Chi- Quadrat- Verteilung mit einem Freiheitsgrad hat. Die Prüfgröße kann mit dem entsprechenden Quantil verglichen werden, sodass je nach gewähltem Signifikanzniveau Konsequenzen zur Verwerfung oder Beibehaltung der Nullhypothese getroffen werden können. Bei sehr geringen Fallzahlen oder starker Asymmetrie findet der Exakte Test nach Fisher Verwendung (Schnell 1999).

2.11.4.6. Exakter Test nach Fisher

Es handelt sich um einen Signifikanztest auf Unabhängigkeit in der Kontingenztafel, der auch bei einer geringen Zahl von Stichproben zuverlässige Resultate liefert. Im Anwendungsgebiet entspricht er dem Chi-Quadrat-Test.

2.11.5. Multiple Regression

Bei der multiplen Regression geht man davon aus, dass eine quantitative abhängige Variable von mehreren unabhängigen Variablen, auch Prädiktoren oder Einflussvariablen genannt, erklärt wird. Die Prädiktorvariablen können quantitativ, ordinal oder nominal sein.

Damit kann ein Modell für die Zusammensetzung des erwarteten Wertes der abhängigen Variablen aus den Einflussvariablen formuliert werden (Sachs 2004, Backhaus et al. 2000).

Mit der linearen Regression werden die Koeffizienten, die sogenannten Regressionskoeffizienten, der linearen Gleichung unter Einbeziehung einer oder mehrerer unabhängiger Variablen geschätzt, die den Wert der abhängigen Variablen am besten voraussagen. Ein Regressionskoeffizient gibt den linearen Einfluss einer unabhängigen Variablen auf die abhängige Variable an.

Die Methode der multiplen Regression, die eine Verallgemeinerung der einfachen linearen Regression darstellt, erlaubt es ferner, simultan den Einfluss mehrerer Faktoren auf die abhängige Variable zu bestimmen. Die folgenden klinischen und biologischen Parameter wurden in die multivariate lineare Regression einbezogen, um Faktoren mit einem signifikanten Einfluss auf die Zielvariable zu ermitteln: Alter und Geschlecht der Patienten, Krankheitsstadium bei Erstdiagnose nach Salmon und Durie (Durie et Salmon 1975), Zeitraum zwischen Diagnose und Mobilisation, Zytotoxizität der vorangegangenen Chemotherapie, Volumen des bestrahlten Knochenmarks, Bestrahlungsdosis, Fraktionierung der Bestrahlung und der Zeitraum zwischen Bestrahlung und Mobilisation.

3. Ergebnisse

3.1. Vorthherapie

3.1.1. Vergleichbarkeit der Gruppe bestrahlter und unbestrahlter Patienten bezüglich klinischer und biologischer Parameter

Zu Beginn der statistischen Analyse wurden die Gruppen der bestrahlten und unbestrahlten Patienten mit Hilfe des U-Tests nach Mann-Whitney und des Chi-Quadrat-Tests auf deren Vergleichbarkeit im Hinblick auf klinische und biologische Parameter untersucht.

Es bestand Übereinstimmung der beiden Gruppen bezüglich des Alters, des Geschlechtes und des Ansprechens auf die vorangegangene Chemotherapie (Tabelle 2.2.). Ein signifikanter Unterschied ergab sich im Bezug auf das Stadium der Erkrankung zum Zeitpunkt der Erstdiagnose ($p=0,004$). Dabei befanden sich die Patienten aus der Gruppe, die vor der Mobilisations-Chemotherapie eine Bestrahlung erhalten hatten, bei Erstdiagnose signifikant häufiger im Stadium 3 nach Salmon und Durie. Die Abbildungen 3.1.a und 3.1.b stellen die Verteilung der Erkrankungsstadien in beiden Gruppen bei Erstdiagnose dar.

3.1.2. Strahlentherapeutische Vorbehandlung

46,5% der Patienten ($n=53$) waren zum Zeitpunkt der Mobilisation strahlentherapeutisch vorbehandelt. Der Prozentanteil des bestrahlten hämatopoetischen Knochenmarks lag im Median bei 9% des gesamten hämatopoetischen Knochenmarks (Range 1-30%).

Die mediane Bestrahlungsdosis betrug 40 Gy (Range 19-60 Gy). Bei der Mehrheit der Patienten betrug die Dosis der Einzelfraktion 2 Gy. Die Wirbelsäule war die am häufigsten bestrahlte Körperregion gefolgt von der Beckenregion.

Die Ergebnisse der Auswertung der strahlentherapeutischen Vorbehandlung sind in Tabelle 3.1. zusammengefasst.

Tabelle 3.1.: Strahlentherapeutische Vorbehandlung

Anzahl der bestrahlten Patienten	53
Dosis der Bestrahlung (Gy)	
Median	40
Range	19-60
Volumen des bestrahlten Knochenmarks (%)	
Median	9
Range	1-30
Dosis der Einzelfractionen (n= Anzahl der Patienten)	
≤2 Gy (Median: 2 Gy)	40 (75%)
>2 Gy (Median: 3 Gy)	13 (25%)
Zeitspanne Bestrahlung – Mobilisation (Mon.)	
Median	4
Range	0-76
bestrahlte Regionen (n= Anzahl der Patienten)*	
Schädel	4
Wirbelsäule	36
Rippen und Sternum	4
Femur	8
Becken	11
untere Extremität	8
Anzahl der bestrahlten Regionen (n= Anzahl der Patienten)	
1	42
2	7
3	2
4	1
5	1

*Bestrahlung mehrerer Regionen möglich

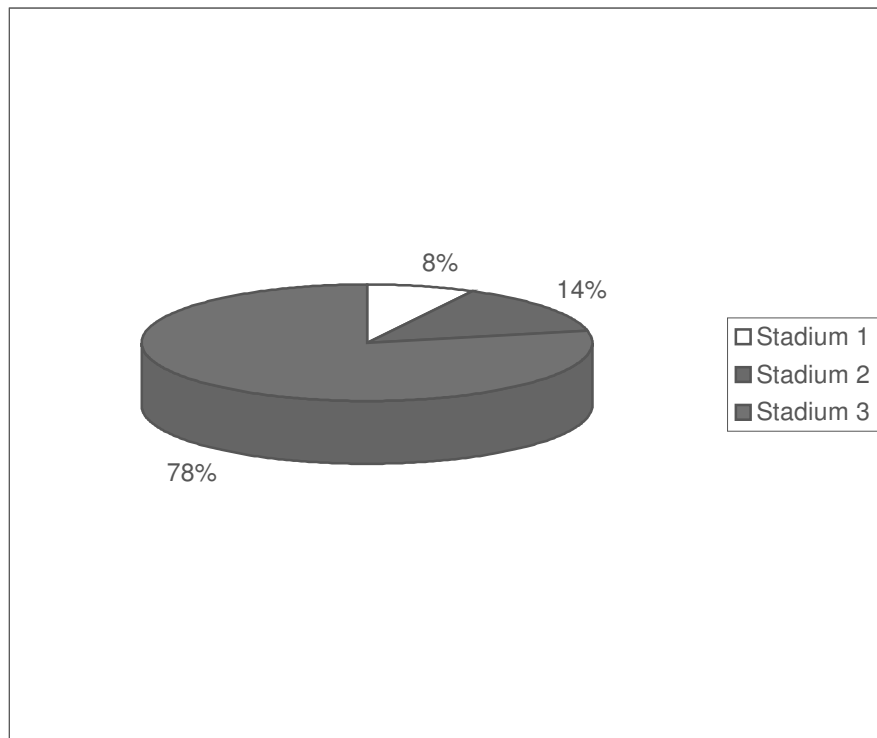


Abbildung 3.1.a: Verteilung der Erkrankungsstadien der Patienten mit vorangegangener Strahlentherapie zum Zeitpunkt der Diagnose

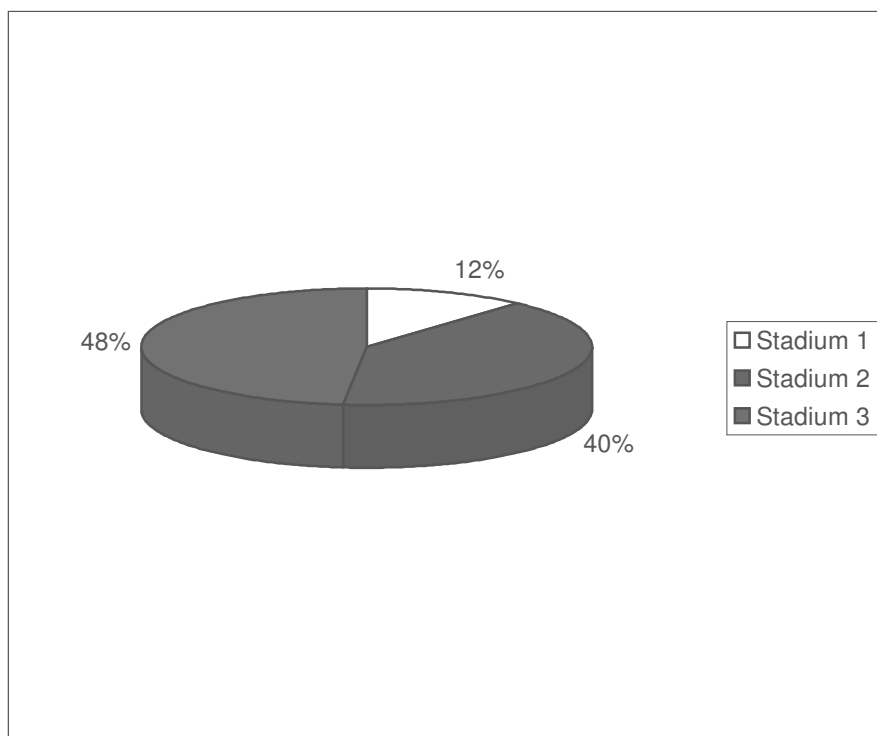


Abbildung 3.1.b: Verteilung der Erkrankungsstadien der Patienten ohne vorangegangene Strahlentherapie zum Zeitpunkt der Diagnose

3.1.3. Chemotherapie

3.1.3.1. Verwendete Chemotherapie-Regime

Alle Patienten wurden vor der Mobilisation mit konventioneller Chemotherapie vorbehandelt. Sie erhielten im Median 4 Zyklen Chemotherapie (1-28), wobei der Median bei den vorbestrahlten Patienten 5 Zyklen (1-26) und bei den unbestrahlten Patienten bei 4 Zyklen (2-28) lag.

Der Schwerpunkt der zytostatischen Vorbehandlung lag auf Vincristin- haltigen Chemotherapie- Regimen. 52% der Patienten wurden mit VAD, 28% mit VACD und 7% mit VID vorbehandelt. 9,5% erhielten MP und 3,5% der Patienten wurden mit anderen Chemotherapeutika behandelt. Bezüglich der angewendeten Anzahl an Chemotherapie-Regimen bestand eine Gleichverteilung in beiden Gruppen (Tabelle 2.2.).

3.1.3.2 Toxizität der Chemotherapie

Die Mehrheit der untersuchten Patienten befand sich in der Chemotherapie-Gruppe I und II und erhielt damit eine chemotherapeutische Vortherapie, die nach unserer Definition eine geringe oder mittelgradige Toxizität auf die Hämatopoese darstellte (Tabelle 2.4.). Lediglich 14% der Patienten befanden sich in der Chemotherapie-Gruppe III und bekamen eine Vortherapie mit nach unserer Definition hochgradiger hämatopoetischer Toxizität.

Hinsichtlich der Toxizität der Vortherapie bestand kein signifikanter Unterschied zwischen bestrahlten und unbestrahlten Patienten.

Die chemotherapeutische Vorbehandlung der Patienten sowie deren Einteilung in Gruppen gemäß der Toxizität ihrer zytostatischen Vortherapie und die Ergebnisse der Prüfung auf Gleichverteilung sind in Tabelle 3.2. dargestellt.

Tabelle 3.2.: Chemotherapeutische Vorbehandlung und Gruppeneinteilung nach Toxizität

	alle Patienten n = 114	bestrahlte Patienten n= 53	unbestrahlte Patienten n= 61	p-Wert
zytostatische Vortherapie (n= Anzahl der Zyklen)				
Median	4	5	4	0,34¹
Range	1-28	1-26	2-28	
zytostatische Vortherapie (n= Anzahl der Patienten)⁵				
VAD	67	33	34	0,086²
VACD	32	14	21	0,36²
VID	9	2	7	0,17⁴
Melphalan	11	5	6	1⁴
CHOP	1	1	0	3
TCED	1	1	0	3
TAD	1	1	0	3
Cyclophosphamid	1	0	1	3
Toxizität der zytostatischen Vortherapie (n= Anzahl der Patienten)				
Gruppe 1	69	31	38	0,8²
Gruppe 2	29	15	14	
Gruppe 3	16	7	9	

¹ U-Test nach Mann-Whitney, ² Chi-Quadrat-Test,³ Test aufgrund zu geringer Patientenzahlen nicht sinnvoll, ⁴ Exakter Test nach Fisher,⁵ Patienten haben teilweise mehrere verschiedene Schemata erhalten

3.1.4. Dauer der Erkrankung und Therapiepause vor der Mobilisation

Bezüglich der Dauer der Erkrankung und der Therapiepause vor der Mobilisation wurden die beiden Patientengruppen auf Gleichheit überprüft. Die Erkrankungsdauer vor der Mobilisation bei den bestrahlten Patienten war signifikant länger als bei den unbestrahlten Patienten (Tabelle 3.3.). Die Zeitspanne zwischen Applikation der ersten Chemotherapie und der Mobilisation zeigte keinen signifikanten Unterschied.

Tabelle 3.3.: Dauer der Erkrankung und Therapiepause vor der Mobilisation

	alle Patienten	bestrahlte Patienten	unbestrahlte Patienten	p-Wert
Zeitspanne Diagnose- Mobilisation (Mon.)				
Median	6	8	6	0,026¹
Range	1-88	1-88	3-76	
Zeitspanne letzte Chemotherapie- Mobilisation (Mon.)				
Median	1	1	1	0,929¹
Range	0-13	0-13	0-12	

¹ U-Test nach Mann- Whitney

3.1.5. Mobilisation

Die Mehrheit der Patienten (84%) erhielt zur Mobilisation der hämatopoetischen Stammzellen Cyclophosphamid. Je nach Dosierung des Cyclophosphamids können zwei Gruppen von Patienten mit einer Dosis $<4\text{g/m}^2$ bzw. einer Dosis $\geq 4\text{g/m}^2$ unterschieden werden. Eine genaue Darstellung der zur Mobilisation verwendeten Chemotherapie-Schemata findet sich in Tabelle 2.4.

Alle Daten, die die Mobilisation betreffen, sind in Tabelle 3.4. dargestellt.

Es besteht eine weitgehende Vergleichbarkeit der Gruppen bestrahlter und unbestrahlter Patienten im Bezug auf die Mobilisationstherapie. Eine Ausnahme stellt die G-CSF- Dosis dar. 9 der 10 Patienten, die mit $5\text{ }\mu\text{g/kg/d}$ mobilisiert wurden, waren unbestrahlt, woraus sich eine signifikante Inhomogenität bezüglich der G-CSF- Dosis ergibt ($p=0,014$).

Tabelle 3.4.: Mobilisation, Gleichverteilung der Patienten

Mobilisationschemotherapie (n= Anzahl der Patienten)	alle Patienten	bestrahlte Patienten	unbestrahlte Patienten	p-Wert
Cyclophosphamid	96	48	48	0,083 ¹
VIE	6	1	5	(4)
DexaBEAM	4	2	2	(4)
CED	4	1	3	(4)
Ifosfamid	3	1	2	(4)
MP	1	0	1	(4)
Dosis Cyclophosphamid g/m²				
<4	32	18	14	0,52 ¹
≥4	59	29	30	
Dosis GCSF (n= Anzahl der Patienten)				
5 µg/kg/d	10	1	9	0,014 ¹
10 µg/kg/d	103	52	51	
G-CSF- Gabe (Tage) (n= 81)				
Median	10	9	10	0,89 ²
Range	4-19	4-16	5-19	
Tag der 1. Separation nach Ende der Mobilisations-Chemotherapie³				
Median	13	13	13	0,94 ²
Range	9-18	9-18	9-18	

¹ Chi- Quadrat- Test, ² U-Test nach Mann- Whitney, ³107 Patienten wurden analysiert,

⁴U-Test wegen zu geringer Patientenzahlen nicht sinnvoll

3.2. Prädiktive Blutparameter für den Ertrag einer Leukapherese

Zur Abschätzung des Separationserfolges einer Leukapherese wurden verschiedene Blutwerte bezüglich ihres Vorhersagewertes für den Ertrag an CD34+ Zellen evaluiert, indem ihre Korrelation betrachtet wurde.

Die Ergebnisse dieser Analyse sind in Tabelle 3.5. dargestellt.

Die stärkste signifikante Korrelation zeigte sich zwischen der Anzahl der CD 34+ Zellen im peripheren Blut am Tag der ersten Leukapherese und der Ausbeute an CD 34+ Zellen/kg Körpergewicht bei der ersten Leukapherese. Dieser Zusammenhang ist in Abbildung 3.2. dargestellt.

Die Korrelation zwischen Prozentanteil der CD 34+ Zellen an der Gesamtzahl der Leukozyten im peripheren Blut am Tag der ersten Leukapherese und der Ausbeute an

CD 34+ Zellen bei der ersten Leukapherese erwies sich als signifikant, jedoch deutlich geringer. Die Korrelation von Thrombozyten/ μ l und der Ausbeute an CD 34+ Zellen/kg Körpergewicht bei der ersten Leukapherese zeigte sich gering und knapp signifikant. Die übrigen Blutwerte korrelierten nicht signifikant mit der Ausbeute.

Der Hämoglobingehalt des Blutes, die Anzahl der Thrombozyten und der Leukozyten, die Anzahl der CD34+ Zellen/ μ l und deren prozentualer Anteil an den Leukozyten am Tag der ersten Leukapherese sowie der Ertrag an CD34+ Zellen/kg bei der ersten Leukapherese wurden auf ihre Korrelation mit der Anzahl der GM-CFU/kg bei der ersten Leukapherese untersucht. Keiner der untersuchten Parameter zeigte eine signifikante Korrelation.

Tabelle 3.5.: Prädiktiver Wert des Blutbildes für den Ertrag an CD34+ Zellen/kg Körpergewicht

	Ertrag an CD34+ Zellen/kg Körpergewicht bei der ersten Leukapherese
Blutbild	Pearson- Korrelation r-Wert
CD34+ Zellen/μl	0,77
%-Anteil CD34+ Zellen	0,563
Leukozyten/μl	0,277
Thrombozyten/μl	0,288
Hb	0,203

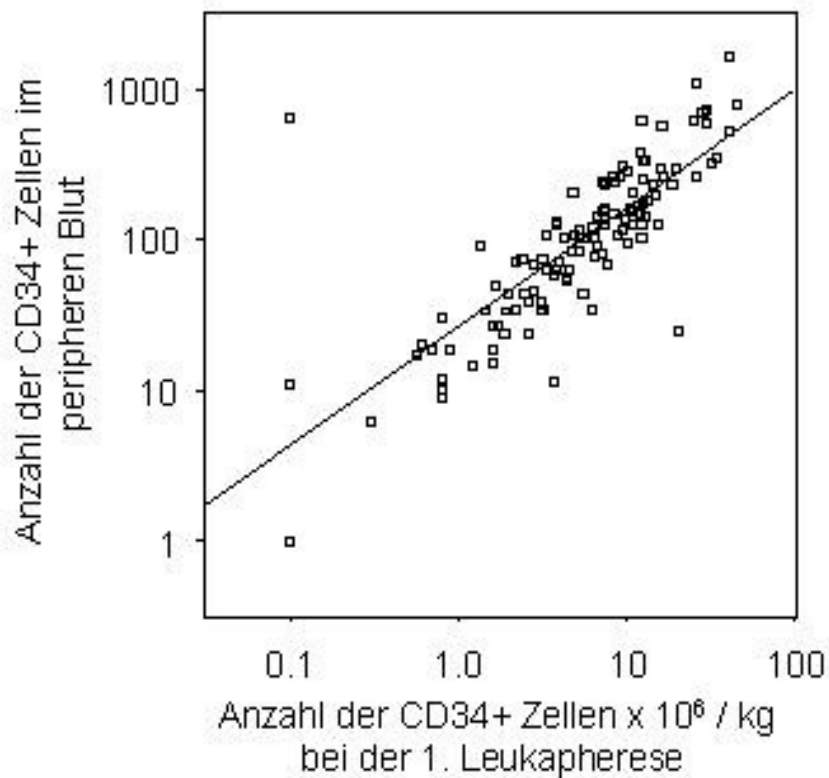


Abbildung 3.2.: Korrelation der Anzahl CD 34+ Zellen im peripheren Blut und der Anzahl an CD34+ Zellen $\times 10^6$ /kg Körpergewicht am Tag der ersten Leukapherese.

Die Anzahl der CD34+ Zellen im peripheren Blut wurden am Tag der ersten Leukapherese vor deren Beginn gemessen. Auch die Anzahl der CD34+ Zellen $\times 10^6$ im Leukapherese- Beutel wurde gemessen und auf das Körpergewicht bezogen.

Beide Werte sind in dieser Abbildung logarithmisch dargestellt ($r = 0,77$; $p < 0,001$).

3.3. Univariate Analyse

3.3.1. Analyse des Einflusses der strahlentherapeutischen Vorbehandlung auf die Mobilisation und Separation

Die Analyse der Daten der bestrahlten und unbestrahlten Patienten ergab keinen signifikanten Unterschied in beiden Patientengruppen bezüglich der Ausbeute an CD34+ Zellen bei der ersten Leukapherese.

Patienten mit einem Intervall zwischen Bestrahlung und Mobilisation von ≤ 5 Monaten hatten eine signifikant höhere Ausbeute bei der ersten Separation ($p=0,015$) als Patienten mit einem Intervall >5 Monate (Abbildung 3.4.).

Es wurde der Einfluss des Volumens bestrahlten Knochenmarks und der Bestrahlungsdosis als kontinuierliche Variable auf die Zielvariable analysiert und kein signifikanter Einfluss gefunden.

Anschließend erfolgte die kategoriale Analyse des Einflusses der Bestrahlungsdosis und des Bestrahlungsvolumens auf die Zielvariable, wobei für die Aufteilung der Patienten in zwei Gruppen der jeweilige Median des entsprechenden Parameters als cut-off diente.

Diese Analysen ergaben keinen signifikanten Unterschied zwischen den jeweiligen Gruppen mit geringer und hoher Bestrahlungsdosis bzw. -volumen. Abbildung 3.3. zeigt einen kontinuierlichen Sachverhalt bezüglich der Zielvariablen.

Abschließend wurde der Einfluss des Faktors aus der Bestrahlungsdosis und dem Volumen des bestrahlten Knochenmarks auf die Zielvariablen untersucht. Diese Analyse erbrachte ebenfalls kein signifikantes Ergebnis.

Darüber hinaus zeigte in der kategorialen Analyse auch die Höhe der Einzeldosis der Bestrahlung keinen signifikanten Einfluss auf die Ausbeute an CD34+ Zellen bei der ersten Apherese.

Die Ergebnisse der Analyse der strahlentherapeutischen Parameter sind in Tabelle 3.6. zusammengefasst.

Alle Analysen wurden auch mit der Anzahl CD34+Zellen/ μl peripheren Blutes am Tag der ersten Separation und mit der Anzahl der GM-CFU/kg Körpergewicht durchgeführt.

Hierbei zeigte sich kein signifikanter Einfluss des Intervalls von der Bestrahlung bis zur Mobilisation auf die Anzahl der GM-CFU/kg Körpergewicht. Darüber hinaus ergaben sich keine Abweichungen von den oben dargestellten Ergebnissen.

Tabelle 3.6.: Univariate Analyse des Einflusses strahlentherapeutischer Parameter auf die Mobilisation und Separation

	CD34+Zellen x10⁶/kg Körpergewicht Median (Range)	p-Wert
Bestrahlung		
ja (n=53)	6,50 (0-44,5)	0,93¹
nein (n=61)	6,30 (0-29,4)	
Intervall Bestrahlung- Mobilisation		
≤5 Monate (n=33)	8,76 (0,8-29,4)	0.015¹
>5 Monate (n=20)	3,81 (0-26,1)	
Volumen bestrahlten Knochenmarks (kontinuierlich)		0,5²
Volumen bestrahlten Knochenmarks		
≤9% (n=30)	5,7 (0-29,3)	0,34¹
>9% (n=23)	8,5 (0,8-29,4)	
Dosis (kontinuierlich)		0,791²
Dosis		
≤40 Gy (n=17)	5,2	0,548¹
>40 Gy (n=36)	7,03	
Einzeldosis		
≤2 Gy (n=40)	7,45	0,17¹
>2 Gy (n=13)	2,6	
Faktor aus Bestrahlungsdosis und – volumen (kontinuierlich)		0,617²

¹ U-Test nach Mann-Whitney, ² Pearsons Korrelations-Koeffizient

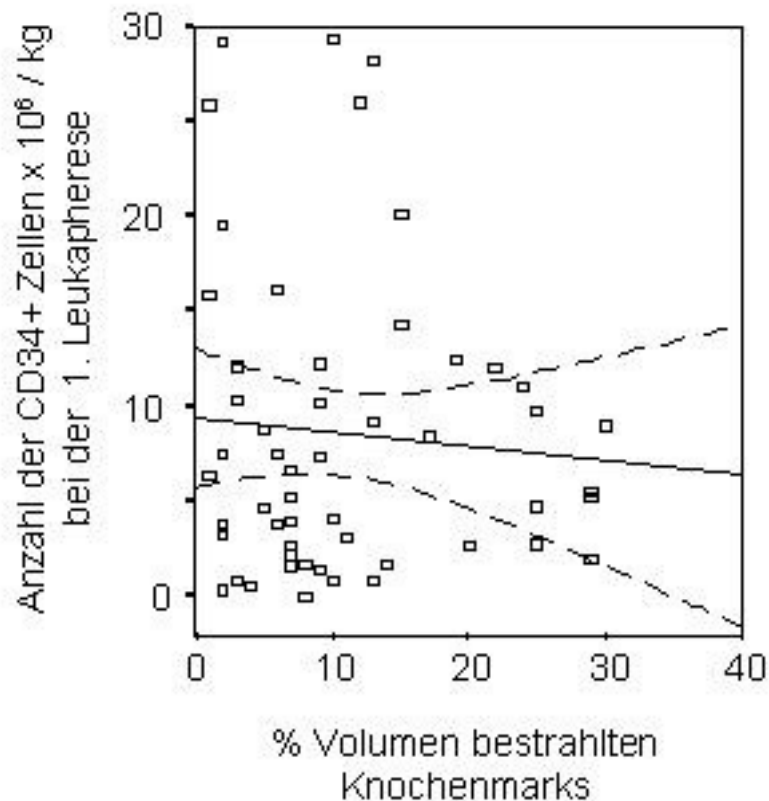


Abbildung 3.3.: Einfluss des Prozentsatzes bestrahlten hämatopoetischen Knochenmarks auf die Anzahl der CD34+ Zellen x10⁶/kg Körpergewicht bei der 1. Leukapherese.

Dargestellt sind die 53 Patienten, die vor der Mobilisation hämatopoetischer Stammzellen strahlentherapeutisch behandelt waren. Auf der X-Achse ist der Prozentanteil bestrahlten hämatopoetischen Knochenmarks aufgetragen, auf der Y-Achse die Anzahl der CD34+ Zellen x10⁶/kg Körpergewicht im ersten Leukapherese- Produkt.

Die gestrichelten Kurven um die Regressionsgerade herum begrenzen den Konfidenzbereich für die Regressionsgerade.

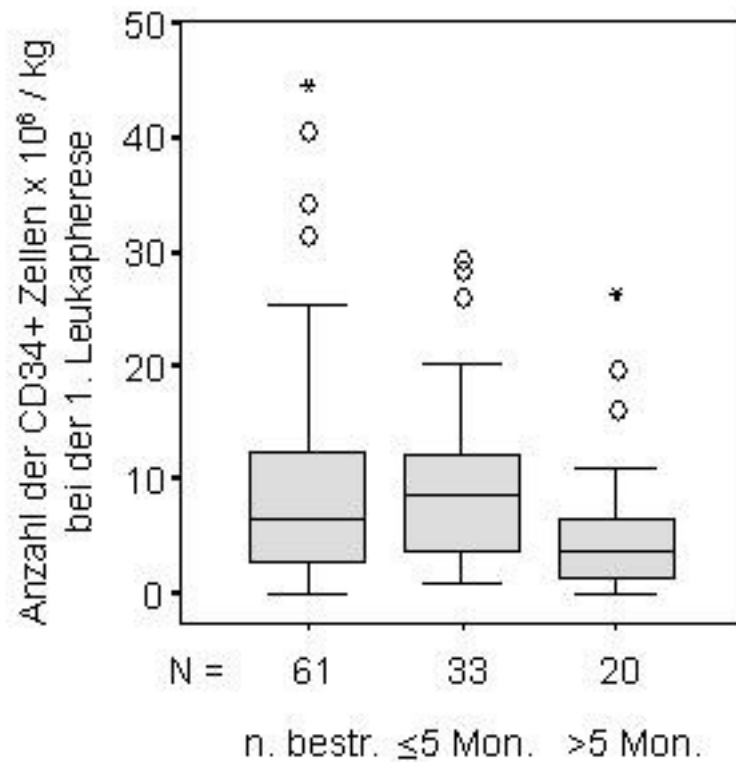


Abbildung 3.4.: Einfluss des Intervalls zwischen einer vorangegangenen Strahlentherapie und der Mobilisation auf Anzahl der gesammelten CD34+ Zellen $\times 10^6$ / kg Körpergewicht /kg Körpergewicht bei der ersten Separation.

Box und Whisker Plot der Ausbeute der ersten Leukapherese. Die Patienten wurden entsprechend der Länge des Intervalls zwischen der strahlentherapeutischen Vorbehandlung und der Mobilisation eingeteilt. Gruppe 1: keine Bestrahlung, Gruppe 2: Intervall Bestrahlung - Mobilisation ≤ 5 Monate, Gruppe 3: Intervall Bestrahlung - Mobilisation >5 Monate.

Auf der X-Achse ist die Anzahl der Patienten (n) in der jeweiligen Gruppe wiedergegeben, die horizontale Linie in der Box repräsentiert den Median, die Box beinhaltet zwei Quartilen, der „Whisker“ zeigt die obere und untere Quartile an. Außerhalb liegende Werte, die durch Kreise und Sterne dargestellt sind, liegen oberhalb oder unterhalb eines Bereiches des Endes der Box zuzüglich des 1,5fachen Interquartilenabstandes (Williamson, Parker et al. 1989).

3.3.2. Analyse des Einflusses der bestrahlten Region auf die Mobilisation und Separation

Die Region des Körpers, die einer Bestrahlung unterzogen wurde, blieb ohne signifikanten Einfluss auf die untersuchte Zielvariable (Tabelle 3.7.).

Diese Analysen wurden auch mit der Anzahl CD34+Zellen/ μ l peripheren Blutes am Tag der ersten Separation und mit der Anzahl der GM-CFU/kg Körpergewicht durchgeführt.

Hierbei ergaben sich keine grundsätzlich anderen Ergebnisse.

Tabelle 3.7.: Univariate Analyse des Einflusses bestrahlten Region auf die Mobilisation und Separation

Bestrahlte Region¹	CD34+ Zellen/kgx10⁶ Median (Range)	p-Wert
Schädel (n=4)	7,80 (4,6-14,3)	3
andere bestrahlte Patienten (n=49)	6,30 (0-29,4)	
Wirbelsäule (n=36)	5,35 (0-29,4)	0,9²
andere bestrahlte Patienten (n=17)	7,50 (0,3-28,3)	
Becken (n=11)	3,90 (0,3-28,3)	0,13²
andere bestrahlte Patienten (n=42)	7,04 (0-29,4)	
obere Extremität (n=8)	5,75 (0,8-26)	0,8²
andere bestrahlte Patienten (n=45)	6,67 (0-29,4)	
Femur (n=8)	7,14 (0,8-28,3)	0,61²
andere bestrahlte Patienten (n=45)	6,30 (0-29,4)	
Thorax (n=4)	3,16 (0,58-14,3)	3
andere bestrahlte Patienten (n=49)	6,67(0-29,4)	

¹ Mehrfachbestrahlung möglich, ² U-Test nach Mann-Whitney,

³ Test aufgrund zu geringer Patientenzahlen nicht sinnvoll

3.3.3. Analyse des Einflusses der chemotherapeutischen Vorbehandlung auf die Mobilisation und Separation

Die Toxizität der vorausgegangenen Chemotherapie, die sich in der Einteilung der Patienten in die Chemotherapie-Gruppen I-III wiederfindet, zeigte einen hohen und signifikanten Einfluss auf die Separationsausbeute. In der univariaten Analyse unter Einbeziehung aller drei Gruppen zeigte sich eine signifikante negative Korrelation zwischen der Toxizität der Chemotherapie und der untersuchten Zielvariablen.

In der Gruppen I und II ohne Melphalan in der Vortherapie ergab sich ein Trend zu geringerer Ausbeute bei Patienten mit >5 Zyklen Chemotherapie gegenüber denen mit ≤5 Zyklen in der Vortherapie bezüglich der Zielvariablen.

Die Analyse des Einflusses einer Vortherapie mit Melphalan (Gruppe III) auf die Anzahl der gewonnenen Stammzellen bei der ersten Separation zeigte einen hochgradig negativen Einfluss des Melphalans (Abbildung 3.3.).

Das Ansprechen auf die chemotherapeutische Vorbehandlung sowie die Länge des chemotherapiefreien Intervalls vor der Mobilisation hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Ausbeute an Stammzellen bei der ersten Apherese. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3.8. zusammengefasst.

Die Analyse des Einflusses der Chemotherapie auf die Anzahl CD34+Zellen/μl peripheren Blutes am Tag der ersten Separation ergaben keine grundsätzlichen Abweichungen von den oben dargestellten Ergebnissen.

Die chemotherapeutische Vorbehandlung hatte in weiterführenden Analysen keinen signifikanten Einfluss auf die Anzahl der GM- CFU/kg Körpergewicht bei der ersten Separation.

Tabelle 3.8.: Univariate Analyse des Einflusses chemotherapeutischer Parameter auf die Mobilisation und Separation

	CD34+ Zellen x 10⁶/kg Körpergewicht Median (Range)	p-Wert
Chemotherapie-Gruppe¹		
Gruppe I (n=29)	8,76 (0-40,6)	<0,001²
Gruppe II (n=69)	4,70 (0,58-44,5)	
Gruppe III (n=16)	2,10 (0,3-29,3)	
Vorthherapie mit Melphalan		
ja (n=16)	2,10 (0,3-29,3)	<0,001³
nein (n=98)	7,14 (0-44,5)	
Vorthherapie ohne Melphalan		
≤5 Zyklen (n=29)	8,76 (0-40,6)	0,088³
>5 Zyklen (n=69)	4,70 (0,58-44,5)	
Intervall Chemotherapie- Mobilisation (kontinuierlich)		0,792
Ansprechen auf Chemotherapie		
CR/PR (n=63)	6,50	0,78³
SD/PD (n=24)	5,75	

¹ Gruppeneinteilung siehe Material und Methoden, ² Kruskal- Wallis- Test,³ U-Test nach Mann-Whitney

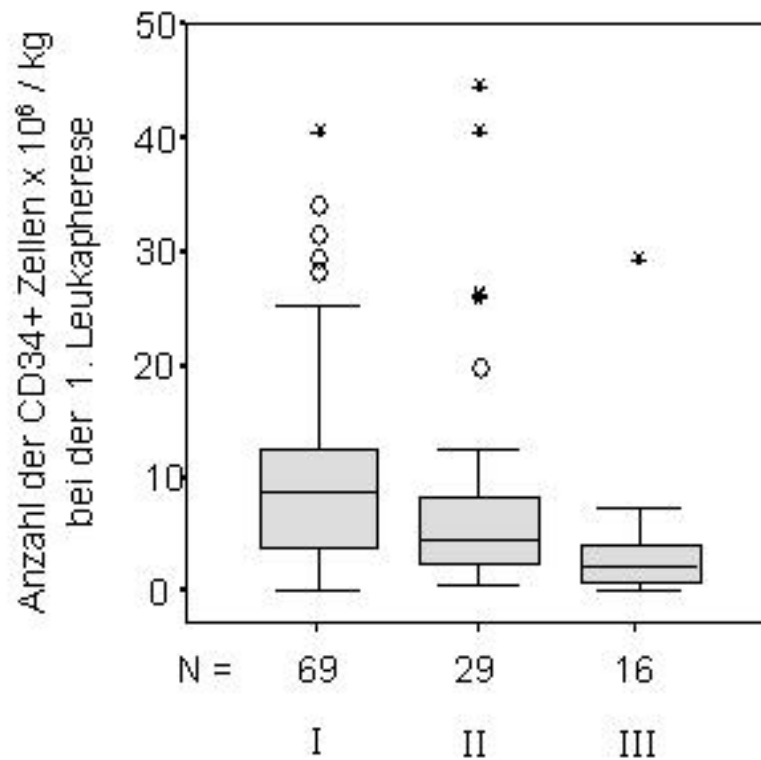


Abbildung 3.5.: Einfluss der vorangegangenen Chemotherapie auf Anzahl der gesammelten CD34+ Zellen $\times 10^6$ /kg Körpergewicht bei der ersten Separation.

Box und Whisker Plot der Ausbeute der ersten Leukapherese. Die Patienten wurden entsprechend der Intensität ihrer chemotherapeutischen Vorbehandlung in die Gruppe I mit geringer Myelotoxizität (≤ 5 Zyklen, kein Melphalan), Gruppe 2 mit mittlerer Myelotoxizität (> 5 Zyklen, kein Melphalan) und Gruppe 3 mit hoher Myelotoxizität (Vorthherapie mit Melphalan) eingeteilt. Auf der X-Achse ist die Anzahl der Patienten (N) in der jeweiligen Gruppe wiedergegeben. Die horizontale Linie in der Box repräsentiert den Median, die Box beinhaltet zwei Quartilen, der „Whisker“ zeigt die obere und untere Quartile an. Außerhalb liegende Werte, die durch Kreise und Sterne dargestellt sind liegen oberhalb oder unterhalb eines Bereiches des Endes der Box zuzüglich des 1,5fachen Interquartilenabstandes (Williamson, Parker et al. 1989).

3.3.4. Analyse des Einflusses von klinischen und biologischen Variablen auf die Mobilisation und Separation

Eine kurze Krankheitsdauer <20 Monate vor Mobilisation korreliert signifikant mit einer höheren Ausbeute an Stammzellen bei der ersten Separation ($p=0,008$).

Es zeigt sich bei der Analyse des Alters und des Geschlechts kein signifikanter Einfluss auf die untersuchte Zielvariable. Es zeichnet sich jedoch ein Trend zu höheren Erträgen an CD34+ Zellen/kg Körpergewicht bei Frauen ab ($p=0,057$).

Die Ergebnisse der Analyse sind in Tabelle 3.9. zusammengefasst.

Die Analysen des Einflusses der klinischen und biologischen Parameter auf die Anzahl CD34+Zellen/ μ l peripheren Blutes am Tag der ersten Separation und die Anzahl der GM-CFU/kg Körpergewicht bei der ersten Separation ergaben keine grundsätzlichen Abweichungen von den oben dargestellten Ergebnissen.

Tabelle 3.9.: Univariate Analyse des Einflusses von klinischen und biologischen Parametern auf die Mobilisation und Separation

	CD34+ Zellen x 10⁶/kg Körpergewicht Median (Range)	p-Wert
Alter¹		0.37²
Geschlecht		
männlich	4,81 (0-44,5)	0,057³
weiblich	7.50 (0-34,1)	
Stadium¹ (n=111)		
I (n=11)	3,19 (0-29,3)	0,31⁴
II (n=31)	6,10 (0,7-40,6)	
III (n=69)	6,60 (0-40,6)	
Zeitraum Diagnose-Mobilisation		
<20 Mon. (n=93)	7,2 (0-44,5)	0,008³
≥20 Mon. (n=21)	2,6 (0-19,6)	

¹zum Zeitpunkt der Diagnose, ²lineare Regression, ³U-Test nach Mann-Whitney,

⁴Kruskal-Wallis-Test

3.3.5. Analyse des Einflusses der Mobilisations-Chemotherapie und der G-CSF- Dosis auf die Mobilisation und Separation

Die Art des zur Mobilisation verwendeten Chemotherapeutikums sowie die Dosis des nach der Mobilisations-Chemotherapie verabreichten G-CSF zeigten keinen signifikanten Einfluss auf die Zielvariable. Die Ergebnisse der Analyse mit dem Ertrag an CD34+ Zellen/kg Körpergewicht bei der ersten Leukapherese als Zielvariable sind in Tabelle 3.10. dargestellt. Bei der Analyse des Einflusses auf die Anzahl der CD34+ Zellen/ μ l peripheren Blutes am Tag der ersten Leukapherese zeigte sich ein Trend zu geringeren Werten. Ein gleichgerichteter Trend ergab sich auch bei denjenigen Patienten, die G-CSF in einer Dosierung von 5 μ g/kg Körpergewicht erhalten hatten. Ansonsten zeigten die Analysen des Einflusses der Mobilisations-Chemotherapie und der G-CSF- Dosis auf die Anzahl CD34+Zellen/ μ l peripheren Blutes am Tag der ersten Separation und die Anzahl der GM-CFU/kg Körpergewicht bei der ersten Separation keine grundsätzlichen Abweichungen von den oben dargestellten Ergebnissen.

Tabelle 3.10.: Univariate Analyse des Einflusses der Mobilisations-Chemotherapie und der G-CSF- Dosis auf die Mobilisation und Separation

Mobilisations-Chemotherapie	CD34+ Zellen x 10⁶/kg Körpergewicht Median (Range)	p-Wert
Cyclophosphamid (n=96)	6,4 (0-44,5)	0,63¹
Andere Regime (n=18)	6,3 (1,3-40,5)	
Cyclophosphamid		
<4g/m ² (n=32)	4,0 (0-34,1)	0,13¹
≥4g/m ² (n=59)	8,3 (0-44,5)	
G-CSF- Dosis		
5 μ g/kg Körpergewicht (n=10)	4,3 (0-40,6)	0,35¹
10 μ g/kg Körpergewicht (n=103)	6,6 (0-44,5)	

¹U-Test nach Mann-Whitney

3.3.6. Andere Faktoren

Patienten, bei denen die Mobilisation zwischen 1996 und 1999 durchgeführt wurde (n=29), wurden mit denjenigen verglichen, deren Mobilisation nach 1999 stattgefunden hatte (n=77). Dabei zeigte sich in der statistischen Analyse bezüglich der drei untersuchten Zielvariablen kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

3.4. Multivariate Analyse

Die in der univariaten Analyse für statistisch signifikant befundenen Parameter sowie diejenigen, bei denen ein Einfluss auf die Mobilisierbarkeit von Stammzellen angenommen werden kann, wurden zur Überprüfung ihrer prädiktiven Relevanz für zirkulierende und gesammelte CD34+ Zellen in ein Modell der multiplen linearen Regression einbezogen. Die Ergebnisse dieser multivariaten Analyse sind in Tabelle 3.11. dargestellt.

Zum einen erwies sich die Chemotherapie-Gruppe als statistisch signifikanter Einflussfaktor auf die Anzahl der gesammelten CD 34+ Zellen/ kg Körpergewicht ($p=0,04$).

Zum anderen zeigte sich eine Tendenz zu höheren Werten bei beiden Zielvariablen bei Patienten mit Cyclophosphamid- Dosis $>4\text{g/m}^2$ in der Mobilisationschemotherapie ($p= 0,08$) und ein Trend zu einer höheren Ausbeute an CD34+ Zellen/kg Körpergewicht bei Frauen ($p=0,08$).

Alle weiteren untersuchten Parameter blieben in der multivariaten Analyse ohne signifikanten Einfluss auf die beiden Zielvariablen. Die Ergebnisse der multivariaten Analyse sind in Tabelle 3.11. zusammengefasst.

Die Anzahl der GM-CFU/kg Körpergewicht bei der ersten Separation zeigte sich in der multivariaten Analyse bei Frauen signifikant höher als bei Männern.

Darüber hinaus ergaben die multivariaten Analysen für die Anzahl CD34+ Zellen/ μl peripheren Blutes am Tag der ersten Separation und die Anzahl der GM-CFU/kg Körpergewicht bei der ersten Separation keine grundsätzlichen Abweichungen von den oben dargestellten Ergebnissen.

Tabelle 3.11.: Multivariate Analyse

	CD34+ Zellen/kg 10⁶ p-Wert
Alter	0,53
Geschlecht	0,08
Stadium bei Diagnose	0,23
Zeitraum Diagnose–Mobilisation	
<20 Monate versus. ≥20 Monate	0,49
Chemotherapie - Gruppe	0,04
Zeitraum Bestrahlung–Mobilisation	
≤5 Monate versus >5 Monate	0,33
Fraktionierung	
≤2 Gy versus >2 Gy	0,27
Volumen bestrahlten Knochenmarks	
≤9% versus >9%	0,59
Cyclophosphamid	
<4g/m ² versus ≥4g/m ²	0,08
G-CSF- Dosis	
5 µg/kg versus 10 µg/kg Körpergewicht	0,38

3.5. Untersuchung einer bezüglich der Mobilisation einheitlichen Subgruppe

Ergänzend wurde eine Subgruppe von Patienten (n=55) mit einheitlicher Mobilisations-Chemotherapie und einheitlicher G-CSF- Dosis untersucht. Alle diese Patienten erhielten Cyclophosphamid in einer Dosierung von 4g/m² und G-CSF in einer Dosierung von ca. 10 µg/kg Körpergewicht. Dabei ergab sich ein signifikanter Einfluss der Chemotherapiegruppe auf die Zielvariablen bei der univariaten Analyse und auf die Ausbeute an CD34+ Zellen/kg bei der multivariaten Analyse.

Ein Zeitraum ≥20 Monate zwischen Diagnose und Mobilisation hatte in dieser Subgruppe eine Reduktion der Ausbeute CD34+ Zellen/kg zur Folge, die sich in der univariaten, nicht jedoch in der multivariaten Analyse als signifikant erwies (p=0,028).

Auch in dieser Subgruppe bestand in der multivariaten Analyse ein Trend zu besserer Mobilisierbarkeit bei den Frauen. Die gesamten Ergebnisse der univariaten und multivariaten Analyse sind in Tabelle 3.12. dargestellt.

Bei den Analysen der Daten dieser Subgruppe ergaben sich in der univariaten und multivariaten Analyse für die Anzahl CD34+Zellen/µl peripheren Blutes am Tag der ersten Separation und die Anzahl der GM-CFU/kg Körpergewicht bei der ersten Separation keine grundsätzlichen Abweichungen von den oben dargestellten Ergebnissen.

Tabelle 3.12.: Untersuchung einer bezüglich der Mobilisation einheitlichen Subgruppe

	CD34+ Zellen/kg Körpergewicht (p-Wert)	
	univariat	multivariat
Alter	0,39	0,86
Geschlecht	0,22	0,055
Stadium bei Diagnose	0,47	0,8
Zeitraum Diagnose – Mobilisation <20 Monate vs. ≥20 Monate	0,028	0,2
Chemotherapie- Gruppe	0,021	0,09
Zeitraum Bestrahlung – Mobilisation ≤5 Monate vs. >5 Monate	0,21	0,19
Fraktionierung ≤2 Gy vs. >2 Gy	0,6	0,35
Volumen bestrahlten Knochenmarks ≤9% vs. >9%	0,73	0,22

4. Diskussion

4.1. Patientenkollektiv

Die Hochdosis-Chemotherapie mit anschließender Transplantation autologer Blutstammzellen ist eine sichere und effektive Methode der Behandlung des multiplen Myeloms. Sie erhöht die Remissionsrate und –dauer und die Gesamtüberlebenszeit (Attal, Harousseau et al. 1996). In den meisten Fällen erfolgt die notwendige Rekonstitution der Hämatopoese mittels peripherer Blutstammzellen. Diese werden im Vorfeld einer HDCT durch Mobilisation und Separation gewonnen. Bei einigen Patienten ist die Gewinnung einer ausreichenden Anzahl von Stammzellen nicht möglich. In der Literatur werden zahlreiche Parameter mit negativem Einfluss auf die Mobilisation von PBPC diskutiert.

Ziel dieser Arbeit ist es, klinische und biologische Parameter, welche einen signifikanten Einfluss auf die Mobilisierbarkeit hämatopoetischer Stammzellen haben, zu identifizieren. Der Schwerpunkt der Arbeit soll dabei auf der Analyse des Einflusses der strahlentherapeutischen Vorbehandlung liegen.

Die Gruppen der vorbestrahlten und der nicht bestrahlten Patienten waren hinsichtlich der klinischen und biologischen Patientencharakteristika wie Alter, Geschlecht und Ansprechen auf die Induktionschemotherapie vergleichbar. Ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen bestand erwartungsgemäß hinsichtlich des Erkrankungsstadiums zum Zeitpunkt der Erstdiagnose. 75% der bestrahlten, aber nur 47% der unbestrahlten Patienten befanden sich bei Erstdiagnose im Stadium III nach Salmon und Durie.

Diese Ungleichverteilung ergibt sich vermutlich aus den Diagnosekriterien von Salmon und Durie (Durie, Salmon 1975), denen zufolge fortgeschrittene Osteolysen ein hinreichendes Kriterium für die Einordnung des Patienten in das Stadium III darstellen. Wie eingangs erwähnt, führen oft erst die durch Osteolysen bedingten Knochenschmerzen zur Diagnose. Das heißt, dass sich die Mehrheit der Patienten, bei denen aufgrund von Osteolysen die Indikation zu einer Strahlentherapie bestand, bei Diagnosestellung bereits im Stadium III nach Salmon und Durie befanden. Auch Perea et al. fanden in dem von ihnen untersuchten Patientenkollektiv eine vergleichbare Verteilung der Stadien bei Erstdiagnose. So befanden sich bei Erstdiagnose 60% der Patienten im Stadium III und 33% im Stadium II nach Salmon und Durie (Perea, Sureda et al. 2001).

Hier stellt sich die Frage, wie sinnvoll eine Stadieneinteilung ist, bei der auch klinisch unauffällige Patienten erfasst werden, aber die Mehrzahl der Patienten sich bereits bei Diagnosestellung im höchsten Stadium befindet und eine Progredienz vom System nicht mehr dargestellt werden kann

Für das im Rahmen dieser Arbeit untersuchte Patientenkollektiv konnte ein Einfluss der Stadien bei Erstdiagnose auf die Zielvariablen nicht bestätigt werden. Es ist daher nicht davon auszugehen, dass die Ungleichverteilung der Stadien bei Erstdiagnose einen Einfluss auf die Ergebnisse dieser Arbeit hat.

Es zeigte sich eine Ungleichverteilung bezüglich der G-CSF-Dosis zwischen der Gruppe der bestrahlten und derjenigen der unbestrahlten Patienten. Allerdings blieb die G-CSF-Dosis in der vorliegenden Arbeit keinen signifikanten Einfluss auf die Zielvariablen, so dass deren Ungleichverteilung zwischen den beiden Gruppen für die Ergebnisse dieser Arbeit nicht relevant erscheint.

Ein längeres Intervall zwischen Erstdiagnose und Mobilisation führte in der vorliegenden Arbeit zu einer signifikant niedrigeren Stammzellausbeute und die bestrahlten Patienten wiesen einen längeren Krankheitsverlauf gegenüber unbestrahlten Patienten auf. Dieser Unterschied in der Krankheitsdauer hätte zu einem schlechteren Ergebnis bei bestrahlten Patienten führen können, dass sich jedoch in der vorliegenden Arbeit nicht beobachten lässt.

4.2. Auswahl der Zielvariablen

Ziel war es einen Parameter zu finden, der eine hohe klinische Relevanz besitzt und gleichzeitig von äußeren Einflüssen wie der Dauer der Apherese und den apparativen Voraussetzungen weitgehend unabhängig ist. In der Literatur werden verschiedene Parameter zur Beurteilung der Mobilisierbarkeit herangezogen, von denen die Wichtigsten im Folgenden diskutiert werden.

4.2.1. Ertrag an CD34+ Zellen/kg Körpergewicht

Nach einer HDCT ist die ausreichende Verfügbarkeit von hämatopoetischen Stammzellen Voraussetzung für die sichere Rekonstitution des hämatopoetischen Knochenmarks und damit Bedingung für die Durchführbarkeit der HDCT.

Die Anzahl der übertragenen CD34+ Zellen hat sich als wichtigster prädiktiver Faktor für die Regeneration der Blutbildung erwiesen und stellt daher sicher den Parameter mit der höchsten klinischen Relevanz dar. Zahlreiche Autoren konnten eine sichere und dauerhafte hämatologische Rekonstruktion nach Reinfusion von $2-2,5 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg Körpergewicht belegen (Schiller, Vescio et al. 1995; Schwella, Siegert et al. 1995) (Schwartzberg, Birch et al. 1993) (Teshima, Harada et al. 1992) (Haas, Mohle et al. 1994).

Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie fordern die Übertragung von mindestens $2,0 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg Körpergewicht (Wieseth,

Cassens et al. 1998). In anderen Publikationen wird sogar $5,0 \times 10^6$ CD34+Zellen/kg Körpergewicht gefordert, insbesondere zur Beschleunigung der Rekonstitution der Thrombopoese (Hohaus, Goldschmidt et al. 1993; Weaver, Hazelton et al. 1995; Kiss, Rybka et al. 1997).

Nachteile der Wahl des Ertrages an CD34+ Zellen für die objektive Beurteilung der Mobilisierbarkeit liegen in der Abhängigkeit von äußeren Einflüssen, wie Dauer der Leukapherese und den verwendeten Geräten.

Zahlreiche Veröffentlichungen, welche sich mit der Mobilisierbarkeit von PBPC beschäftigen, haben dennoch die Anzahl CD34+ Zellen/kg Körpergewicht am ersten Tag der Leukapherese als Zielvariable verwendet. Auch um eine Vergleichbarkeit mit anderen Studien zu erzielen, ist es daher sinnvoll, diese Zielvariable zu benutzen.

4.2.2. Anzahl der CD34+ Zellen/μl peripheren Blutes

Um eine Zielvariable zu finden, die von äußeren Einflussfaktoren unabhängig ist, aber dennoch gut mit der Ausbeute der CD34+ Zellen/kg Körpergewicht korreliert, wurden weitere Blutparameter untersucht (Kapitel 3.2.).

Die Anzahl der CD34+ Zellen/μl peripheren Blutes am Tag der Apherese ist ein solcher Parameter, der in der vorliegenden Untersuchung eng mit dem Ertrag an peripheren Blutstammzellen korreliert. Dies spiegelte sich auch in den Ergebnissen wieder, bei denen kein relevanter Unterschied nachweisbar war, und deckt sich mit den Ergebnissen anderer Autoren. So untersuchten Haas et al. Lymphompatienten nach Mobilisation mittels Chemotherapie und G-CSF und zeigten eine enge signifikante Korrelation zwischen zirkulierenden und separierten CD34+ Zellen (Haas, Mohle et al. 1994). Zu vergleichbaren Ergebnissen kamen auch einige andere Autoren, die ebenfalls hochgradige Korrelationen zwischen der Anzahl peripherer und separierter CD34+ Zellen nachweisen konnten (Schwella, Siegert et al. 1995; Mohle, Murea et al. 1996).

Die Messung der CD34+ Zellen/μl peripheren Blut durch die FACS-Analyse ist jedoch schwierig. Insbesondere wenn niedrige CD34+- Werte vorliegen, können die Messergebnisse erheblichen Schwankungen unterliegen.

Weitere Untersuchungen in der Arbeit dienten daher der Suche nach einem Schwellenwert für die CD34+ Zellen/μl, der für die erforderliche Stammzellausbeute von $>2,5 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg Körpergewicht bei der ersten Leukapherese prädiktiv ist. Aus Abbildung 3.2. lässt sich eine solche Schwelle bei 50 CD34+ Zellen/μl peripheren Blutes erkennen. Nur von drei Patienten, die diesen Wert überschritten, konnten in der ersten Separation weniger als $2,5 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg Körpergewicht gesammelt werden.

Auch Haas et al. ermittelten als Schwellenwert für einen Apherese- Ertrag von $2,5 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg Körpergewicht eine Blutkonzentration von 50 CD34+ Zellen/ μ l peripheren Blutes (Haas, Mohle et al. 1994).

Als vergleichende Untersuchungen wurden die Analysen mit der Anzahl der CD34+ Zellen/ μ l peripheren Blutes durchgeführt.

4.2.3. Anzahl der GM-CFU/kg Körpergewicht

Eine weitere vergleichende Analyse wurde mit der Anzahl der GM-CFU/kg Körpergewicht bei der ersten Separation durchgeführt, da die Anzahl der GM-CFU/kg Körpergewicht nach Ansicht einiger Autoren die Fähigkeit der Stammzellen zur Wiederansiedlung im Knochenmark und zur Rekonstitution der Hämatopoese widerspiegelt (Douay, Gorin et al. 1986; Spitzer, Verma et al. 1980; Rowley, Jones et al. 1989; Domenech, Desbois et al. 1993). Andere Arbeitsgruppen teilen diese Meinung jedoch nicht (Torres, Alonso et al. 1985). Die Ergebnisse dieser Analyse sind nur eingeschränkt aussagekräftig. So lässt die Methode der Anzüchtung und Auszählung der GM-CFU eine quantitative Auswertung eigentlich nicht zu. Der Methylzellulose CFU- Assay unterliegt zahlreichen Einflussfaktoren und wird erheblich von der Dosierung und Mischung der eingesetzten Zytokine bestimmt. Auch lassen sich große interindividuelle quantitative Unterschiede bei gleichen Ausgangsbedingungen feststellen. Somit wird der CFU- Assay meist als semiquantitativ angesehen.

Aufgrund unterschiedlicher Labormethoden an den beiden Zentren Berlin und Marburg sind die Werte der in die Studie eingeschlossenen Patienten nicht direkt vergleichbar.

Die Ergebnisse werden in 4.7. deshalb gesondert diskutiert.

4.2.4. Weitere Blutwerte

Die Zahl der Leukozyten/ μ l peripheren Blutes und der Prozentanteil der CD34+ Zellen an den Leukozyten am Tag der ersten Leukapherese stellen weitere Parameter dar, die Rückschlüsse auf die Mobilisierbarkeit peripherer Stammzellen zulassen und von äußeren Einflüssen weitgehend unabhängig sind. In den durchgeführten Analysen zeigte sich allerdings nur eine geringe Korrelation mit der tatsächlichen Ausbeute an CD 34+ Zellen/kg Körpergewicht.

4.3. Einfluss klinischer und biologischer Parameter auf die Mobilisierbarkeit

Klinische und biologische Parameter, deren Einfluss auf die Mobilisierbarkeit in der Literatur diskutiert werden, sind das Alter, das Geschlecht, das Ansprechen auf die Vortherapie und

die Erkrankungsdauer. Eine verminderte Proliferationsfähigkeit des hämatopoetischen Knochenmarks könnte möglicherweise zu einer Verschlechterung der Mobilisierbarkeit hämatopoetischer Stammzellen mit zunehmendem Alter führen.

In der vorliegenden Analyse blieb das Alter der Patienten ohne signifikanten Einfluss auf die Ausbeute an CD34+ Zellen. Goldschmidt et al. (Goldschmidt, Hegenbart et al. 1997) kommen bei der Analyse der Daten von 103 Plasmozytompatienten zu vergleichbaren Ergebnissen. Auch Haas et al. konnten in ihrer Studie mit 61 Patienten mit malignem Lymphom keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Alter der Patienten und der Ausbeute an CD34+ Zellen nachweisen (Haas, Mohle et al. 1994). Weaver et al. dokumentierten in einer Studie mit 497 Patienten übereinstimmende Ergebnisse (Weaver, Schwartzberg et al. 1997). Hingegen konnten Morris et al. anhand von 984 Myelompatienten einen negativen Einfluss des Alters auf die Mobilisierbarkeit belegen (Morris, Siegel et al. 2003). Auch de la Rubia et al. konnten an einem großen Patientenkollektiv einen negativen Einfluss zunehmenden Alters auf die Mobilisierbarkeit belegen (de la Rubia, Blade et al. 2006).

Im Allgemeinen wird im klinischen Alltag von einer besseren Mobilisierbarkeit von PBPC bei Männern gegenüber Frauen ausgegangen, obgleich die Mehrheit der Studien keinen signifikanten Einfluss des Geschlechtes auf die Mobilisierbarkeit nachweisen konnten (Haas, Mohle et al. 1994; Dreger, Kloss et al. 1995). Die Analyse der Daten von 57 Myelompatienten durch Perea et al. ergab lediglich einen Trend zu besseren Separationsergebnissen bei Männern (Perea, Sureda et al. 2001). Im Widerspruch dazu ergab sich in der vorliegenden Arbeit ein Trend zu einer höheren Ausbeute an Stammzellen/kg Körpergewicht bei Frauen als bei Männern. Der Grund für dieses Ergebnis ist möglicherweise in einer intensiveren chemotherapeutischen Vorbehandlung der männlichen Patienten zu suchen. Männer erhielten statistisch signifikant häufiger eine chemotherapeutische Vorbehandlung, die einer Toxizität der Gruppe 2 oder 3 entspricht. Wie im folgenden Abschnitt beschrieben hat die chemotherapeutische Vorbehandlung einen negativen Einfluss auf die Mobilisierbarkeit.

Einige Autoren konnten zeigen, dass gutes Ansprechen auf die zytostatische Vortherapie auf eine bessere Stammzellausbeute bei einer späteren Mobilisation und Separation schließen lässt. So war in einer Studie von Marit et al. mit 116 Patienten mit aggressivem multiplem Myelom bei den Patienten, die gut auf die Vortherapie angesprochen hatten, die Separation von $>2 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg Körpergewicht signifikant häufiger möglich als bei Patienten mit schlechtem Ansprechen (Marit, Thiessard et al. 1998). In der vorliegenden Arbeit ließen sich diese Ergebnisse nicht bestätigen.

Eine Erkrankungsdauer von über 20 Monaten zum Zeitpunkt der Mobilisation hatte in der vorliegenden Arbeit in der univariaten Analyse einen signifikant negativen Einfluss auf die Anzahl CD34+ Zellen/kg Körpergewicht am ersten Separationstag.

Diese Ergebnisse decken sich mit denen früherer Untersuchungen. So konnten verschiedene Autoren einen Zusammenhang zwischen einer Behandlungsdauer >6 Monaten (Corso, Caberlon et al. 2000) beziehungsweise 12 Monaten (Perea, Sureda et al. 2001) und einer geringen Stammzellausbeute belegen. Im Einklang hiermit stehen auch andere Untersuchungen (Marit, Thiessard et al. 1998; de la Rubia, Blade et al. 2006).

Die Annahme, dass eine lange Erkrankungsdauer mit einer höheren Anzahl an Chemotherapie-Zyklen einhergeht, wurde durch die vorliegende Analyse bestätigt. Patienten mit einer Erkrankungsdauer <20 Monate erhielten vor der Mobilisation im Median 4 Zyklen, Patienten mit einer Erkrankungsdauer ≥ 20 Monaten 6 Zyklen.

Zusätzlich führt möglicherweise die zunehmende Infiltration des Knochenmarks durch die malignen Plasmazellen mit zunehmender Erkrankungsdauer zu einer Beeinträchtigung der Proliferationskapazität des gesunden hämatopoetischen Knochenmarks und dadurch zu einer Reduktion der Ausbeute an peripheren Blutstammzellen. Ergebnisse von Demirer et al. bestätigen diese Vermutung (Demirer, Buckner et al. 1996).

Für den überlegenen Einfluss der Chemotherapie spricht die Tatsache, dass in der multivariaten Analyse kein signifikanter Einfluss der Erkrankungsdauer auf die Stammzellausbeute nachweisbar war, es also kein unabhängiger Einflussfaktor ist.

4.4. Strahlentherapeutische Vorbehandlung

Die Auswirkungen der Strahlentherapie auf die Mobilisation und Separation peripherer Blutstammzellen werden in der Literatur kontrovers diskutiert.

Verschiedene Autorengruppen konnten in ihren Arbeiten einen negativen Einfluss der Bestrahlung auf das Separationsergebnis belegen. So fanden Dregger et al. in einer Studie mit 96 Patienten mit Hodgkin- Lymphom oder hochgradigen Non- Hodgkin-Lymphomen einen signifikanten negativen Einfluss der Bestrahlung auf den Ertrag an CD34+ Zellen/kg Körpergewicht und GM-CFU sowohl in der univariaten als auch in der multivariaten Analyse (Dreger, Kloss et al. 1995). Zu vergleichbaren Ergebnissen kamen Bensinger et al. (Bensinger, Appelbaum et al. 1995) bei der Untersuchung von 243 Patienten mit Brustkrebs, malignen Lymphomen, Multiplem Myelom und anderen malignen Erkrankungen, ebenso Demirer et al. (Demirer, Buckner et al. 1996) bei der Analyse der Daten von 57 Patienten mit MM.

Bei der Analyse der Daten von 103 Myelompatienten durch Goldschmidt et al. (Goldschmidt, Hegenbart et al. 1997) ergab sich eine geringere Anzahl ausreichender Stammzellausbeuten

von $>2 \times 10^6 \text{CD34+}/\text{kg}$ Körpergewicht unter den bestrahlten Patienten. Dieses Ergebnis war in der univariaten Analyse signifikant und in der multivariaten Analyse annähernd signifikant. Andere Autorengruppen konnten keinen negativen Einfluss der Bestrahlung auf die Mobilisierbarkeit peripherer Blutstammzellen nachweisen (Dreger, Kloss et al. 1995; Drake, Ranaghan et al. 1997). Diejenigen der bisher erwähnten Arbeiten, die einen Einfluss der Bestrahlung auf die Mobilisierbarkeit peripherer Blutstammzellen belegen können, machen keine Aussage über den Einfluss des Volumens bestrahlten Knochenmarks. Haas et al. führten ihre Analysen an 61 Lymphompatienten mit großvolumiger Strahlenbehandlung durch und stellten eine Reduktion der separierten Stammzellen um $1,8 \times 10^6 \text{CD34+}$ Zellen/kg Körpergewicht durch die Bestrahlung fest.

Kobbe et al kommen in ihrer Analyse der Daten von 52 Patienten mit malignem Lymphom und Plasmozytom zu dem Ergebnis, dass die Bestrahlung eines Volumens $>20\%$ des hämatopoetischen Knochenmarks zu einem signifikant negativem Einfluss auf die Mobilisierbarkeit führt (Kobbe, Sohngen et al. 1999). Dabei könnte jedoch die vorherige Chemotherapie der Patienten als möglicher Confounder angesehen werden. Kobbe et al vergleichen eine moderat (1) und eine intensiv (2) vorbehandelte Patientengruppe. In die Gruppe (2) ordnen sie jedoch auch diejenigen Patienten ein, deren vorherige Chemotherapie aus >6 Zyklen bestand. Wie oben erwähnt konnten zahlreiche Autorengruppen eine Vortherapie mit >6 Zyklen Chemotherapie als signifikant negativen Prognosefaktor identifizieren, so dass das Bestrahlungsvolumen als unabhängiger Einflussfaktor fraglich erscheint.

Zur Erklärung eines potentiellen Einfluss der Bestrahlung auf die Mobilisierbarkeit PBPC sind mehrere Ansätze denkbar.

Das linear-quadratische Modell von Kellerer und Rossi (Abbildung 4.1.) ist eine mathematische Beschreibung des Einflusses von Bestrahlung auf das Überleben von Zellen. Dabei ist das gewebespezifische α/β -Verhältnis maßgeblich für die Erholungsfähigkeit des Gewebes und damit für die Bedeutung des Fraktionierungseffektes für das Überleben des Gewebes. Hämatopoetisches Knochenmark weist ein α/β -Verhältnis von >10 auf. Daraus ergibt sich eine geringe Bedeutung der Fraktionierung. Die Einzeldosen können daher näherungsweise addiert werden.

Für die Bestrahlung eines kleineren Volumens hämatopoetischen Knochenmarks von etwa 10-15% kann von einer kompletten Ablation oder Hypoplasie in der bestrahlten Region nach einer Bestrahlung mit einer Dosis von 30 Gy ausgegangen werden (Sykes, Chu et al. 1964; Croizat, Frindel et al. 1970; Rubin, Landman et al. 1973; Slanina, Musshoff et al. 1977). Das Ausmaß des Schadens am hämatopoetischen System variiert stark je nach Volumen und Lokalisation der Bestrahlung. Scarantio und Rubin beschrieben die Abhängigkeit der Regeneration der Hämatopoese von dem Bestrahlungsvolumen (Scarantino, Rubin et al.

1984). Diesen Studien zufolge kommt es durch die Bestrahlung eines kleineren Volumens bis ca. 25% zu einer Kompensation der Kapazität ohne in-field- Regeneration und ohne Hyperplasie des unbestrahlten Knochenmarks. Bei einer Bestrahlung von 25-50% des Knochenmarks kommt es den Autoren zufolge zu einer Reduktion der Leukozyten und Thrombozyten gefolgt von einer Kompensation durch die Hyperplasie des unbestrahlten Knochenmarks. Oberhalb eines Bestrahlungsvolumens von 50% kommt es sowohl zu einer partiellen in-field Regeneration als auch zu einer Expansion unbestrahlten Knochenmarks in bislang inaktive Bereiche wie Femora oder Humeri.

Diese Erkenntnisse legen die Hypothese nahe, dass das Bestrahlungsvolumen des hämatopoetischen Knochenmarks invers mit der Ausbeute an peripheren Blutstammzellen korreliert sein könnte.

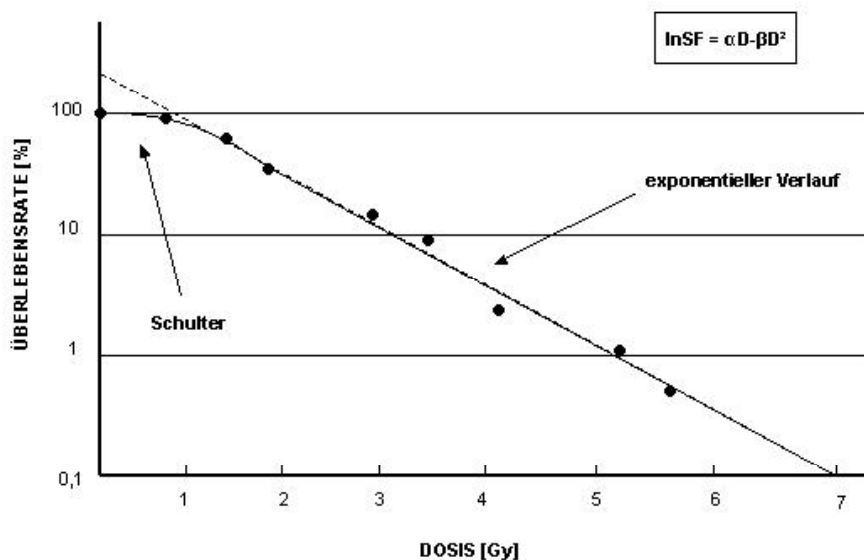


Abbildung 4.1: Das linear-quadratische Modell nach Kellerer und Rossi (Rossi, Hall et al. 1973)

Eine weitere Erklärung für die möglichen negativen Auswirkungen der Strahlentherapie auf die Hämatopoese bietet die Theorie des so genannten Bystander- Effekts. Diese geht davon aus, dass Zellen, bei denen durch Bestrahlung subletale Schäden gesetzt wurden, bei unbestrahlten Zellen Apoptose auslösen können.

Wichtige Experimente, die die Existenz des Bystander- Effekts nahelegen, wurden von Mothersill und Seymour durchgeführt (Seymour and Mothersill 2000; Mothersill, Lyng et al. 2001).

Durch die Übertragung des zellfreien Mediums einer bestrahlten Zellkultur menschlicher Epithelzellen auf eine unbestrahlte Zellkultur konnte in dieser eine hohe Apoptoserate ausgelöst werden. Dieses Phänomen wurde in einem Dosisbereich zwischen 0,5 und 5 Gy beobachtet.

Experimente von Zhou et al. legen die größere Bedeutung einer Zell-Zell Interaktion über gap-junctions in Vergleich zum oxidativen Stress durch Radikale für die Entstehung des Bystander- Effekts nahe (Zhou, Randers-Pehrson et al. 2002).

Neuere Experimente der Arbeitsgruppe um Zhou geben wichtige Hinweise darauf, dass Cyclooxygenase-2 eine entscheidende Rolle im Rahmen des Bystander- Effekts spielt (Zhou, Ivanov et al. 2005).

Als weitere potentielle Mechanismen, die einen Bystander- Effekt bewirken könnten, werden in der Literatur die Vermittlung über Mediatoren wie die Mitogen-aktivierte-Protein-Kinase (Lyng, Maguire et al. 2006), Zytokine wie TNF α (Unnithan et Macklis 2004), reaktive Sauerstoff-Spezies und Calcium (Lyng, Maguire et al. 2006) kontrovers diskutiert.

Weitere Effekte, die für den Einfluss niedrig dosierter Strahlung auf Zellen von Bedeutung zu sein scheinen, sind die genomische Instabilität und eine sowohl durch Bestrahlung selbst als auch durch das Medium bestrahlter Zellen (Bystander-Effekt) ausgelöste Veränderung der genomischen Methylation (Kaup, Grandjean et al. 2006).

Es kann angenommen werden, dass auch durch eine lokale Bestrahlung mit geringem Bestrahlungsvolumen eine bedeutende Störung der Hämatopoese ausgelöst werden könnte. In der vorliegenden Studie konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Patientengruppen mit einem Bestrahlungsvolumen $\leq 9\%$ und $>9\%$ gefunden werden. Dies deutet darauf hin, dass die Ablation oder die Hypoplasie von bis zu 30% des hämatopoetischen Knochenmarks keinen Einfluss auf die Ausbeute CD34+ Zellen/kg Körpergewicht oder Anzahl CD34+ Zellen/ μ l am Tag der ersten Leukapherese hat. Im Einklang mit diesem Ergebnis wurde auch kein Unterschied zwischen bestrahlten und unbestrahlten Patienten bezüglich der beiden Zielvariablen gefunden. Dies lässt darauf schließen, dass der Bystander- Effekt keine Auswirkungen auf die Mobilisierbarkeit von Stammzellen besitzt oder dessen Einfluss aufgrund zu geringer Patientenzahlen in dieser Untersuchung nicht nachweisbar war.

Neben der reaktiven Hyperaktivität des unbestrahlten Knochenmarks, die auch 8-13 Jahre nach der Bestrahlung noch nachweisbar war (Tubiana, Frindel et al. 1979), könnte der Schaden durch die Bestrahlung auch durch Regeneration im bestrahlten Gebiet kompensiert worden sein, wie auch Ergebnisse von Parmentier et al. zeigen (Parmentier, Morardet et al. 1983). Der zeitliche Verlauf der Regeneration ist sehr variabel. Nach Untersuchungen von Rubin et al. kann die Regeneration mehrere Jahre in Anspruch nehmen. Nach 5 Jahren zeigten 75 % der Patienten eine vollständige oder partielle Regeneration des bestrahlten Knochenmarks (Rubin, Landman et al. 1973).

In der vorliegenden Studie fand die Mobilisation der Patienten im Median 4 Monate (Range 0-76 Monate) nach der Bestrahlung statt. Nach 4 Monaten fanden Rubin et al. bei 85% der

von ihnen untersuchten Patienten keine Regeneration und bei 15% der Patienten eine partielle Regeneration (Rubin, Landman et al. 1973).

Um den Einfluss der Regeneration des Knochenmarks in der vorliegenden Arbeit zu analysieren, wurden die Patienten gemäß dem Zeitraum zwischen Bestrahlung und Mobilisation in zwei Gruppen eingeteilt und diese Gruppen mit den Zielvariablen korreliert. Dabei wäre eine positive Auswirkung eines längeren Zeitraums und damit einer umfassenderen Regeneration auf die Mobilisierbarkeit zu erwarten gewesen, es zeigte sich jedoch ein negativer Einfluss. Der Grund für dieses Ergebnis liegt möglicherweise in intensiverer Vortherapie und dem höheren Grad an Knochenmarksinfiltration in der Gruppe, die eine längere Zeitspanne zwischen Bestrahlung und Mobilisation aufweist. Die Bedeutung des Ausmaßes der Knochenmarksinfiltration in diesem Zusammenhang wurde von Perea et al. nachgewiesen (Perea, Sureda et al. 2001). Eine Knochenmarksinfiltration von >20% erwies sich in seiner Analyse der Daten von 57 Myelompatienten als signifikanter negativer Prognosefaktor für die Mobilisierbarkeit von Stammzellen. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Demirer et al. (Demirer, Buckner et al. 1996). Diese Erklärung steht auch im Einklang mit den Ergebnissen zum Einfluss der Erkrankungsdauer auf die Mobilisierbarkeit.

Die Bestrahlungsdosis und die Fraktionierung der Bestrahlung zeigten in dieser Arbeit keinen signifikanten Einfluss auf die Mobilisierbarkeit.

Die Bestrahlungsdosis bezieht sich nur auf die lokal im bestrahlten Gewebe abgegebene Energie und gibt keinen ausreichenden Hinweis auf das Ausmaß des Knochenmarkschadens.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die Ergebnisse dieser Arbeit darauf hindeuten, dass die Kompensationsmechanismen des Körpers ausreichend sind, um eine Bestrahlung von bis zu 30% des hämatopoetischen Knochenmarks auszugleichen. Auch ein möglicher Bystander- Effekt zeigte in dieser Untersuchung keine nachweisbaren Auswirkungen.

4.5. Chemotherapeutische Vorbehandlung

Viele Autoren sehen in der chemotherapeutischen Vorbehandlung einen wichtigen Faktor mit negativem Einfluss auf die Mobilisation von PBPC.

Insbesondere über den negativen Einfluss des stammzelltoxischen Melphalans besteht in der Literatur weitgehend Einigkeit.

Viele frühere Untersuchungen identifizierten eine Vorbehandlung mit Melphalan als den wichtigsten negativen Einflussfaktor auf die Mobilisierbarkeit von PBPC.

Den Einfluss der Dosis des Melphalans untersuchten Perea et al. Sie identifizierten in einer Studie mit 57 Myelompatienten die alkylierende Chemotherapie erst ab einer Gabe von > 6

Zyklen als einen statistisch signifikanten prognostischen Faktor für eine Ausbeute $< 2,5 \times 10^6$ CD34+ Zellen /kg Körpergewicht (Perea, Sureda et al. 2001).

Boccadoro et al. analysierten die Daten von 89 therapieresistenten Myelompatienten mit dem Ergebnis, dass die mit Melphalan vorbehandelten Patienten zu einem signifikant geringeren Anteil die für eine Transplantation adäquate Ausbeute von 2×10^6 CD34+ Zellen/kg Körpergewicht erreichten. Dabei wirkte sich die intravenöse Gabe von Melphalan besonders negativ aus (Boccadoro, Palumbo et al. 2002).

Der Einfluss der Dauer der chemotherapeutischen Vorbehandlung mit Melphalan wurde von Goldschmidt et al. in einer Arbeit mit 103 Myelompatienten gezeigt. Mit zunehmender Dauer verminderte sich der Ertrag an peripheren Blutstammzellen signifikant (Goldschmidt, Hegenbart et al. 1997).

Prince et al. kamen bei 37 Patienten mit Plasmozytom zu dem Ergebnis, dass mit steigender Anzahl der Zyklen Melphalan in der Vortherapie der Ertrag an CFU-GM signifikant abnimmt. Dabei ist bemerkenswert, dass bereits eine Vortherapie mit 1-4 Zyklen Melphalan die Mobilisierbarkeit signifikant senkte (Prince, Imrie et al. 1996).

Dies deutet darauf hin, dass jegliche Vortherapie mit Melphalan unabhängig von der Dosis die Mobilisierbarkeit negativ beeinflussen könnte. Knudsen et al. kommen zu vergleichbaren Ergebnissen. Bei der Analyse von 75 Myelompatienten konnten sie eine signifikante Reduktion der Anzahl CD34+/ μ l und der Ausbeute an CD34+ Zellen/kg durch jegliche Vortherapie mit Melphalan nachweisen (Knudsen, Rasmussen et al. 1999). Corso et al. und Marit et al. bestätigen diese Ergebnisse (Marit, Thiessard et al. 1998; Corso, Caberlon et al. 2000).

Auch die vorliegende Arbeit bestätigt die Hypothese, dass jede Melphalangabe unabhängig von Dosis oder Dauer der Therapie die Ausbeute CD34+ Zellen/kg Körpergewicht am Tag der ersten Leukapherese und Anzahl CD34+/ μ l peripheren Blutes am Tag der ersten Separation negativ beeinflusst. Im direkten Vergleich der Patienten mit Vortherapie mit Melphalan jeglicher Dauer und Dosierung und ohne Vortherapie mit Melphalan ergab sich ein starker negativer Einfluss des Melphalans auf die beiden oben genannten Zielvariablen. Die Ausbeute an CD34+ Zellen wurde durch eine Vortherapie mit Melphalan im Median auf weniger als ein Drittel der Ausbeute der Patienten ohne Vortherapie mit Melphalan gesenkt. In einem gewissen Gegensatz zu den zuvor genannten Arbeiten stehen die Ergebnisse von Schwella et al., die belegen, dass Melphalan als Mobilisations-Chemotherapie geeignet ist (Schwella, Kingreen et al. 1997).

Weniger einheitlich wird in der Literatur die Auswirkung der herkömmlichen, nicht alkylierenden chemotherapeutischen Vorbehandlung auf die Mobilisierbarkeit gesehen.

Im Gegensatz zur Vortherapie mit Melphalan hatte die Anzahl der Zyklen konventioneller Chemotherapie in der vorliegenden Arbeit keinen signifikanten Einfluss auf die beiden

Zielvariablen. Obwohl der Ertrag an CD34+ Zellen bei den Patienten, die mehr als fünf Zyklen konventionelle Chemotherapie erhalten hatten, im Median nur etwa die Hälfte des Ertrages der weniger intensiv vorbehandelten Patienten betrug, entsprach dies in der Analyse lediglich einem Trend zu geringerer Ausbeute CD34+ Zellen/kg Körpergewicht und geringeren Anzahlen CD34+ Zellen/ μ l peripheren Blutes. Möglicherweise sind die toxischen Auswirkungen der nicht-alkylierenden Substanzen zu gering, um bei der Anzahl der analysierten Patienten einen signifikanten Einfluss zeigen zu können.

Autorengruppen wie Kotasek et al., Weaver et al. Copelan et al. und Watts et al. konnten ebenfalls zwischen der vorausgegangenen konventionellen Chemotherapie und der Mobilisierbarkeit von Stammzellen keinen Zusammenhang feststellen (Kotasek, Shepherd et al. 1992; Copelan, Ceselski et al. 1997; Watts, Sullivan et al. 1997; Weaver, Schwartzberg et al. 1997). Andere Autoren konnten eine Verminderung der Stammzellausbeute durch Gabe von 5 bzw. 6 Zyklen konventioneller Chemotherapie belegen (Jerjis, Croockewit et al. 2000; Canales, Arrieta et al. 2000). Haas et al. führten eine Analyse der Daten von 61 Patienten mit malignem Lymphom durch und kalkultierten bei nicht bestrahlten Patienten eine durchschnittliche Erniedrigung des Aphereseertrages um $0,2 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg Körpergewicht mit jedem Zyklus chemotherapeutischer Vorbehandlung (Haas, Mohle et al. 1994). Tricot et al. sahen in ihren Arbeiten die Dauer der chemotherapeutischen Vortherapie als signifikanten Einflussfaktor auf die Dauer bis zur Rekonstitution der Hämatopoese, wobei sich auch in dieser Studie der besonders negative Einfluss der alkylierenden Substanzen zeigte, die bereits nach einer Behandlungsdauer von weniger als 6 Monaten einen signifikant negativen Effekt zeigten (Tricot, Jagannath et al. 1995).

Bei der Analyse der vorliegenden Daten zeigte sich auch ein starker und signifikanter negativer Einfluss der Zugehörigkeit zu den Chemotherapie-Gruppen I-III, die die Patienten nach zunehmender Toxizität der Vorbehandlung einteilt. Dieses Ergebnis dürfte maßgeblich auf den starken Einfluss des Melphalans in Gruppe 3 zu erklären sein, da die Anzahl der Zyklen konventioneller Chemotherapie keinen signifikanten Einfluss auf die Zielvariablen zeigte.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass Melphalan als stärkster negativer Einflussfaktor auf die Mobilisierbarkeit von PBPC durch die vorliegende Arbeit bestätigt wurde. Die negativen Auswirkungen konventioneller Chemotherapie sind hingegen weniger gut belegt und ließen sich durch die vorliegende Studie nicht eindeutig nachweisen.

4.6. Mobilisationstherapie

In vielen Studien, die sich mit der Mobilisierbarkeit von PBPC befassen, werden die Daten von Patienten analysiert, die Cyclophosphamid in unterschiedlichen Dosierungen als

Mobilisations-Chemotherapie erhalten haben. Auch in der vorliegenden Arbeit bestand die Mobilisations-Chemotherapie bei der Mehrheit der Patienten aus Cyclophosphamid, bei einem geringeren Anteil der Patienten aus anderen Chemotherapie-Regimen, wobei sich zwischen beiden Gruppen bezüglich der Mobilisierbarkeit kein signifikanter Unterschied zeigte.

Die Auswirkung der Cyclophosphamid- Dosis auf die Mobilisierbarkeit wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Verschiedene Autorengruppen konnten eine signifikante Auswirkung der Cyclophosphamid- Dosis auf die Mobilisierbarkeit belegen. Goldschmidt et al. zeigten den statistisch signifikanten positiven Einfluss einer höheren Cyclophosphamid- Dosis auf den Spitzenwert der CD34+ Zellen/ μ l im peripheren Blut bei Plasmozytompatienten (Goldschmidt, Hegenbart et al. 1996). Zu ähnlichen Ergebnissen kommen auch Rowlings et al., allerdings wurde in dieser Studie Cyclophosphamid in unterschiedlichen Dosierungen ohne zusätzliche Gabe von Wachstumsfaktoren zur Mobilisation eingesetzt, so dass die Aussagekraft dieser Studie eingeschränkt erscheint (Rowlings, Bayly et al. 1992).

Andere Autoren konnten keinen solchen Einfluss der Cyclophosphamid- Dosis finden (Ketterer, Salles et al. 1998).

Es existieren Hinweise, dass sich die Mobilisierbarkeit durch eine Kombination von Cyclophosphamid mit Etoposid noch verbessern lässt (Mollee, Pereira et al. 2002).

Die vorliegende Arbeit ergab sich in der multivariaten Analyse, nicht aber in der univariaten ein Trend zu geringerer Stammzellausbeute bei den Patienten, die eine Dosis $<4\text{g/m}^2$ verglichen mit denjenigen, deren Dosis bei $\geq 4\text{g/m}^2$ lag. Das lässt die Existenz eines relevanten Unterschiedes vermuten. Möglicherweise war in dieser Analyse die Anzahl der Datensätze zu gering, um diesen signifikant belegen zu können.

Neben einer Chemotherapie erhielten alle in die vorliegende Untersuchung eingeschlossenen Patienten den Wachstumsfaktor G-CSF zur Mobilisation der Stammzellen in das periphere Blut.

Auch G-CSF wurde den Patienten in verschiedenen Dosierungen verabreicht. Die Dosierung erfolgte nicht nach Körpergewicht, sondern als Absolutdosis, die sich aus dem Wirkstoffgehalt der im Handel befindlichen Fertigarzneimittel ergab. Das Patientenkollektiv wurde daher in eine Gruppe mit einer G-CSF- Dosis von annähernd $5\text{ }\mu\text{g/kg/d}$ und eine Gruppe mit einer G-CSF- Dosis von annähernd $10\text{ }\mu\text{g/kg/d}$ eingeteilt.

Zwar zeigte sich in der Analyse kein signifikanter Unterschied auf die beiden Zielvariablen –allenfalls ein Trend bei der Anzahl CD34+ Zellen/ μ l peripheren Blutes am Tag der ersten Apherese- die wesentlich geringeren Mediane beider Zielvariablen lagen allerdings bei den Patienten, die eine geringere Dosis erhalten hatten. Ein Zusammenhang erscheint denkbar. Er konnte möglicherweise aufgrund einer zu geringen Patientenzahl in der Gruppe mit $5\text{ }\mu\text{g/kg/d}$ nicht nachgewiesen werden.

In der Literatur wird ein möglicher positiver Einfluss einer Erhöhung der G-CSF- Dosis auf die Mobilisierbarkeit peripherer Stammzellen kontrovers diskutiert.

In einer großen Studie fanden Beelen et al. bei 150 gesunden Stammzellspendern eine signifikante Erhöhung der Stammzellausbeute durch Steigerung der G-CSF- Dosis (Beelen, Ottinger et al. 2002).

Nademanee et al., die den Einfluss der G-CSF- Dosis an einer Gruppe von 65 Patienten mit malignen Lymphomen untersuchten, kamen jedoch zu dem Ergebnis, dass sich durch Steigerung der Dosis von 5 µg/kg/d auf 10 µg/kg/d weder die Anzahl der erforderlichen Apheresen senken noch eine signifikant höhere Ausbeute an GM-CFU erzielen ließ (Nademanee, Sniecinski et al. 1994). Auch Martin-Murea et al. konnten keine Steigerung der Ausbeute durch eine Dosisescalation belegen (Martin-Murea, Voso et al. 1998).

Durch eine Subgruppenanalyse wurde ausgeschlossen, dass Unterschiede in Cyclophosphamid- und G-CSF- Dosis die übrigen Ergebnisse beeinflussen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Probandenzahl dieser Studie vielleicht nicht ausgereicht hat, um den Einfluss, den die gezeigten Trends zur besseren Mobilisation durch Steigerung der Cyclophosphamid- und G-CSF- Dosis vermuten lassen, eindeutig zu belegen.

4.7. Einfluss des technischen Fortschritts

Um den Einfluss des technischen Fortschritts bei den Methoden der Mobilisation zu untersuchen, wurden die Patienten, bei denen die Mobilisation zwischen 1996 und 1999 durchgeführt wurde mit denen verglichen, deren Mobilisation nach 1999 stattgefunden hatte. Dabei zeigte sich in der statistischen Analyse bezüglich der drei untersuchten Zielvariablen kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

Boccadoro et al. konnten dagegen in ihren Analysen eine Abhängigkeit des Separationsergebnisses vom Jahr, in dem die Separation durchgeführt wurde nachweisen (Boccadoro, Palumbo et al. 2002).

4.8. Auswirkungen der verschiedenen Einflussfaktoren auf die Anzahl der GM-CFU/kg Körpergewicht

Aufgrund der eingeschränkten Aussagekraft der Anzahl der GM-CFU/kg Körpergewicht, die bereits im Kapitel 4.2.3. erörtert wurde, werden die Ergebnisse der Analysen, denen die Anzahl der GM-CFU/kg Körpergewicht als Zielvariable diente, gesondert diskutiert.

Insbesondere war kein Nachweis einer Korrelation der strahlentherapeutischen Parameter auf die Anzahl der GM-CFU/kg Körpergewicht möglich.

Dieses Ergebnis legt nahe, dass die Teilungsfähigkeit der gewonnen Stammzellen durch die Bestrahlung nicht beeinträchtigt wird.

Auch Prince et al. konnten in ihrer Untersuchung keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Bestrahlung und dem Ertrag an GM-CFU/kg Körpergewicht nachweisen (Prince, Imrie et al. 1996).

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen fanden Corso et al. bei der Analyse der Daten von 51 Myelompatienten zwar einen signifikant negativen Einfluss der Strahlentherapie auf die Ausbeute an GM-CFU/kg Körpergewicht, nicht aber auf den Ertrag an CD34+ Zellen (Corso, Caberlon et al. 2000).

Im Unterschied zu den beiden anderen Zielvariablen zeigte die Anzahl der GM-CFU/kg Körpergewicht keine Korrelation mit der zytostatischen Vortherapie der Patienten. Insbesondere die Vortherapie mit dem stammzelltoxischen Melphalan, die sich in der vorliegenden Arbeit als wichtigster negativer Einflussfaktor auf die Ausbeute CD34+ Zellen/kg Körpergewicht und Anzahl CD34+ Zellen/ μ l peripheren Blut am Tag der ersten Apherese erwiesen hat, blieb ohne signifikanten Einfluss auf das Wachstum der GM-CFU.

Dies unterstreicht die These, dass Melphalan zwar zu einer Abtötung der hämatopoetischen Stammzellen im Knochenmark führt, die Klonogenität der überlebenden Stammzellen aber nicht beeinträchtigt wird.

Andere Autorengruppen konnten dagegen einen signifikant negativen Einfluss alkylierender Substanzen auf die Anzahl der gesammelten GM-CFU/kg nachweisen (Dreger, Kloss et al. 1995; Corso, Caberlon et al. 2000). Drake et al. analysierten die Daten von 74 Patienten mit vorwiegend hämatologischen Erkrankungen unter dem Gesichtspunkt der hämatopoetischen Toxizität der im Rahmen der Vortherapie verwendeten zytostatischen Medikamente. Medikamente mit hoher Stammzelltoxizität wie Melphalan erhielten 4 Punkte, Substanzen ohne Myelosuppression 0 Punkte. In der multiplen linearen Regression führten die Medikamente mit dem Toxizitätsfaktor 4 zu einer signifikanten Verringerung des Leukapherese- Ergebnisses sowohl von CD34+ Zellen/kg Körpergewicht als auch von GM-CFU/kg Körpergewicht (Drake, Ranaghan et al. 1997).

Frauen zeigten in der vorliegenden Arbeit ein signifikant besseres Wachstum der GM-CFU/kg Körpergewicht.

Dieses Ergebnis steht im Widerspruch zu der in der Literatur vertretenen Ansicht, dass die Mobilisierbarkeit von Stammzellen bei Männern besser sei als bei Frauen.

Die Cyclophosphamid- Dosis zeigte einen negativen Einfluss auf die Anzahl der GM-CFU/kg Körpergewicht. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen der Analyse der beiden anderen Zielvariablen und zu den Ergebnissen anderer Studien, die zeigen, dass eine Steigerung der Cyclophosphamid- Dosis den Ertrag an GM-CFU erhöht (Rowlings, Bayly et al. 1992).

Die übrigen Ergebnisse waren denen der Analysen, welche die Anzahl der CD34+ Zellen/kg Körpergewicht und die Anzahl der CD34+ Zellen/ μ l peripheren Blutes als Zielvariablen nutzten, analog.

4.9. Schlussfolgerungen

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Bestrahlung von bis zu 30% hämatopoetischem Knochenmark in dieser Arbeit keinen negativen Einfluss auf die Mobilisierbarkeit peripherer Blutstammzellen hat.

Die chemotherapeutische Vorbehandlung und insbesondere diejenige mit Melphalan hat in der vorliegenden Studie den stärksten Einflussfaktor auf die Ausbeute CD34+ Zellen/kg Körpergewicht und Anzahl CD34+ Zellen/ μ l peripheres Blut am ersten Tag der Apherese, nicht jedoch auf die Anzahl der GM-CFU/kg Körpergewicht.

Biologische Faktoren wie Alter, Geschlecht, Krankheitsstadium bei Erstdiagnose sowie das Ansprechen auf die Vortherapie scheinen keine Auswirkungen auf die Mobilisierbarkeit von PBPC zu haben.

Möglicherweise besteht ein positiver Einfluss einer höheren Cyclophosphamid- und G-CSF-Dosis auf die Mobilisierbarkeit von Stammzellen in das periphere Blut.

Zur Klärung dieses potentiellen Einflusses wäre die Durchführung einer prospektiven Studie an einem großen Patientenkollektiv erforderlich.

5. Zusammenfassung

Das Plasmozytom ist eine derzeit nicht heilbare Erkrankung, die von maligne entarteten B-Zellklonen im hämatopoetischen Knochenmark ausgeht. Ein häufiges Symptom stellen schmerzhafteste Osteolysen dar, für die eine lokale Bestrahlung eine effektive Möglichkeit der Behandlung darstellt.

Die HDCT mit anschließender Reinfusion autologer peripherer Blutstammzellen stellt derzeit eine Standardtherapie des multiplen Myeloms dar, die eine signifikante Steigerung des Gesamtüberlebens ermöglicht. Um die lebenswichtige Rekonstitution der Hämatopoese nach einer HDCT gewährleisten zu können, ist die Reinfusion einer ausreichenden Menge PBPC erforderlich. Daher ist die erfolgreiche Mobilisation und Separation PBPC vor der HDCT für deren Durchführbarkeit unerlässlich.

Die Bestrahlung hämatopoetischen Knochenmarks vor der Mobilisation peripherer Blutstammzellen könnte, ebenso wie eine vorangegangene Chemotherapie und weitere klinische und biologische Parameter, zu einer Minderung des Ertrages an PBPC führen und damit letztlich die Durchführung einer HDCT unmöglich machen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war die quantitative Analyse des Einflusses der strahlen- und chemotherapeutischen Vorbehandlung sowie anderer patientenabhängiger Parameter auf die Anzahl der gewonnenen CD34+ Zellen/kg Körpergewicht bei der ersten Separation und die Anzahl CD34+ Zellen/ μ l peripheren Blutes am Tag der ersten Separation. Der Schwerpunkt lag dabei auf der quantitativen Analyse des Einflusses des bestrahlten Volumens hämatopoetischen Knochenmarks und der Bestrahlungsdosis auf den Ertrag an PBPC.

Die Daten von 114 Myelompatienten (67 Männer und 47 Frauen) wurden retrospektiv analysiert.

Das Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Diagnose lag im Median bei 53 Jahren, 60% der Patienten befanden sich zu diesem Zeitpunkt im Stadium III nach Salmon und Durie. 53 Patienten hatten sich vor der Mobilisation einer Bestrahlung unterzogen.

Das mediane Volumen des bestrahlten hämatopoetischen Knochenmarks lag bei 8,5% (Range 1-30%), und die mediane Dosis bei 36 Gy (Range 19-60 Gy).

Die konventionelle Chemotherapie setzte sich bei der überwiegenden Mehrheit der Patienten aus Vincristin- haltigen Regimen zusammen, 11 Patienten erhielten eine Melphalan- haltige Vortherapie, 4 Patienten bekamen andere Chemotherapien. Nach der hämatologischen Toxizität wurde das Patientenkollektiv in drei Gruppen eingeteilt: moderate Toxizität (≤ 5 Zyklen, keine Melphalangabe), mittlere Toxizität (> 5 Zyklen, keine Melphalangabe) und hohe Toxizität (jede Melphalangabe in der Vortherapie oder Mobilisationstherapie).

Bei der überwiegenden Mehrheit der Patienten bestand die Mobilisationstherapie aus hochdosiertem Cyclophosphamid gefolgt von dem Wachstumsfaktor G-CSF.

In der vorliegenden Arbeit ließ sich kein negativer Einfluss der Bestrahlung auf die Mobilisierbarkeit von PBPC nachweisen. Weder das Volumen bestrahlten Knochenmarks noch die Bestrahlungsdosis zeigten signifikante Auswirkungen auf das Separationsergebnis. Aus dem Ergebnissen dieser Arbeit lässt sich die Vermutung ableiten, dass der Verlust von bis zu 30% hämatopoetischen Knochenmarks vom Körper kompensiert werden kann und daher ohne Auswirkungen auf die hämatopoetische Potenz bleibt.

Als einziger Parameter zeigte die Toxizität der Chemotherapie und insbesondere die Vortherapie mit Melphalan sowohl in der univariaten als auch der multivariaten Analyse einen signifikant negativen Einfluss auf die Blutkonzentration und Ausbeute an CD34+ Zellen. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit den Erkenntnissen vieler Autorengruppen.

Darüber hinaus wurden die beiden genannten Parameter in der univariaten Analyse auch von einem langen Krankheitsverlauf vor der Mobilisation und - möglicherweise aus dem gleichen Grund - von einem großen Intervall zwischen Bestrahlung und Mobilisation signifikant negativ beeinflusst. Der Zusammenhang zwischen einer langen Erkrankungsdauer und einer daraus folgenden intensiveren chemotherapeutischen Vortherapie erscheint naheliegend und könnte diese Ergebnisse erklären.

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden in Annals of Hematology veröffentlicht (Rinn, Schwella et al. 2006).

6. Literatur

Adams, J., V. J. Palombella, et al. (1999). "Proteasome inhibitors: a novel class of potent and effective antitumor agents." *Cancer Res* 59(11): 2615-22.

Alexanian, R. and M. Dimopoulos (1994). "The treatment of multiple myeloma." *N Engl J Med* 330(7): 484-9.

Alexanian, R., A. Haut, et al. (1969). "Treatment for multiple myeloma. Combination chemotherapy with different melphalan dose regimens." *Jama* 208(9): 1680-5.

Alexanian, R., D. Weber, et al. (2003). "Thalidomide with or without dexamethasone for refractory or relapsing multiple myeloma." *Semin Hematol* 40(4 Suppl 4): 3-7.

Amati, B. and H. Land (1994). "Myc-Max-Mad: a transcription factor network controlling cell cycle progression, differentiation and death." *Curr Opin Genet Dev* 4(1): 102-8.

Anderson, H., J. H. Scarffe, et al. (1995). "VAD chemotherapy as remission induction for multiple myeloma." *Br J Cancer* 71(2): 326-30.

Andrews, R. G., J. W. Singer, et al. (1986). "Monoclonal antibody 12-8 recognizes a 115-kd molecule present on both unipotent and multipotent hematopoietic colony-forming cells and their precursors." *Blood* 67(3): 842-5.

Arora, M., L. J. Burns, et al. (2004). "Randomized comparison of granulocyte colony-stimulating factor versus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor plus intensive chemotherapy for peripheral blood stem cell mobilization and autologous transplantation in multiple myeloma." *Biol Blood Marrow Transplant* 10(6): 395-404.

Attal, M., J. L. Harousseau, et al. (2003). "Single versus double autologous stem-cell transplantation for multiple myeloma." *N Engl J Med* 349(26): 2495-502.

Attal, M., J. L. Harousseau, et al. (2006). "Maintenance therapy with thalidomide improves survival in patients with multiple myeloma." *Blood* 108(10): 3289-94.

Attal, M., J. L. Harousseau, et al. (1996). "A prospective, randomized trial of autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in multiple myeloma. Intergroupe Francais du Myelome." *N Engl J Med* 335(2): 91-7.

Avet-Loiseau, H., T. Facon, et al. (1999). "14q32 translocations and monosomy 13 observed in monoclonal gammopathy of undetermined significance delineate a multistep process for the oncogenesis of multiple myeloma. Intergroupe Francophone du Myelome." *Cancer Res* 59(18): 4546-50.

Backhaus, K., B. Erichson, et al. (2000). "Multivariate Analysemethoden." 1-69.

Bartl, R., B. Frisch, et al. (1987). "Histologic classification and staging of multiple myeloma. A retrospective and prospective study of 674 cases." *Am J Clin Pathol* 87(3): 342-55.

Baur, A., A. Stabler, et al. (2002). "Magnetic resonance imaging as a supplement for the clinical staging system of Durie and Salmon?" *Cancer* 95(6): 1334-45.

Beelen, D. W., H. Ottinger, et al. (2002). "Filgrastim mobilization and collection of allogeneic blood progenitor cells from adult family donors: first interim report of a prospective German multicenter study." *Ann Hematol* 81(12): 701-9.

Beguin, Y., E. Baudoux, et al. (1998). "Hematopoietic recovery in cancer patients after transplantation of autologous peripheral blood CD34+ cells or unmanipulated peripheral blood stem and progenitor cells." *Transfusion* 38(2): 199-208.

Bensinger, W., F. Appelbaum, et al. (1995). "Factors that influence collection and engraftment of autologous peripheral-blood stem cells." *J Clin Oncol* 13(10): 2547-55.

Bensinger, W. I., D. Buckner, et al. (1997). "Allogeneic stem cell transplantation for multiple myeloma." *Hematol Oncol Clin North Am* 11(1): 147-57.

Berenson, J. R., A. Lichtenstein, et al. (1998). "Long-term pamidronate treatment of advanced multiple myeloma patients reduces skeletal events. Myeloma Aredia Study Group." *J Clin Oncol* 16(2): 593-602.

Berenson, J. R., A. Lichtenstein, et al. (1996). "Efficacy of pamidronate in reducing skeletal events in patients with advanced multiple myeloma. Myeloma Aredia Study Group." *N Engl J Med* 334(8): 488-93.

- Bernard, P., J. Reiffers, et al. (1985). "Collection of circulating haemopoietic cells after chemotherapy in acute non-lymphocytic leukaemia." *Br J Haematol* 61(3): 577-8.
- Beyer, J., N. Schwella, et al. (1995). "Hematopoietic rescue after high-dose chemotherapy using autologous peripheral-blood progenitor cells or bone marrow: a randomized comparison." *J Clin Oncol* 13(6): 1328-35.
- Blade, J., C. Rozman, et al. (1989). "A new prognostic system for multiple myeloma based on easily available parameters." *Br J Haematol* 72(4): 507-11.
- Blade, J., D. Samson, et al. (1998). "Criteria for evaluating disease response and progression in patients with multiple myeloma treated by high-dose therapy and haemopoietic stem cell transplantation. Myeloma Subcommittee of the EBMT. European Group for Blood and Marrow Transplant." *Br J Haematol* 102(5): 1115-23.
- Boccadoro, M., A. Palumbo, et al. (2002). "Oral melphalan at diagnosis hampers adequate collection of peripheral blood progenitor cells in multiple myeloma." *Haematologica* 87(8): 846-50.
- Bortz, J. (2005). „Statistik für Sozialwissenschaftler.“ 181 - 236.
- Bosch, A. and Z. Frias (1988). "Radiotherapy in the treatment of multiple myeloma." *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 15(6): 1363-9.
- Canales, M. A., R. Arrieta, et al. (2000). "Factors influencing collection and engraftment of CD34+ cells in patients with breast cancer following high-dose chemotherapy and autologous peripheral blood progenitor cell transplantation." *J Hematother Stem Cell Res* 9(1): 103-9.
- Cavo, M., P. Galieni, et al. (1989). "Prognostic variables and clinical staging in multiple myeloma." *Blood* 74(5): 1774-80.
- Chatterjee, M., D. Honemann, et al. (2002). "In the presence of bone marrow stromal cells human multiple myeloma cells become independent of the IL-6/gp130/STAT3 pathway." *Blood* 100(9): 3311-8.

Chauhan, D., H. Uchiyama, et al. (1996). "Multiple myeloma cell adhesion-induced interleukin-6 expression in bone marrow stromal cells involves activation of NF-kappa B." *Blood* 87(3): 1104-12.

Chesi, M., E. Nardini, et al. (1997). "Frequent translocation t(4;14)(p16.3;q32.3) in multiple myeloma is associated with increased expression and activating mutations of fibroblast growth factor receptor 3." *Nat Genet* 16(3): 260-4.

Civin, C. I., L. C. Strauss, et al. (1984). "Antigenic analysis of hematopoiesis. III. A hematopoietic progenitor cell surface antigen defined by a monoclonal antibody raised against KG-1a cells." *J Immunol* 133(1): 157-65.

Copelan, E. A., S. K. Ceselski, et al. (1997). "Mobilization of peripheral-blood progenitor cells with high-dose etoposide and granulocyte colony-stimulating factor in patients with breast cancer, non-Hodgkin's lymphoma, and Hodgkin's disease." *J Clin Oncol* 15(2): 759-65.

Corradini, P., M. Ladetto, et al. (1993). "Mutational activation of N- and K-ras oncogenes in plasma cell dyscrasias." *Blood* 81(10): 2708-13.

Corso, A., S. Caberlon, et al. (2000). "Blood stem cell collections in multiple myeloma: definition of a scoring system." *Bone Marrow Transplant* 26(3): 283-6.

Craig, J. I., M. L. Turner, et al. (1992). "Peripheral blood stem cell transplantation." *Blood Rev* 6(2): 59-67.

Croizat, H., E. Frindel, et al. (1970). "Proliferative activity of the stem cells in the bone-marrow of mice after single and multiple irradiations (total-or partial-body exposure)." *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med* 18(4): 347-58.

Croucher, P. I., R. De Hendrik, et al. (2003). "Zoledronic acid treatment of 5T2MM-bearing mice inhibits the development of myeloma bone disease: evidence for decreased osteolysis, tumor burden and angiogenesis, and increased survival." *J Bone Miner Res* 18(3): 482-92.

D'Amato, R. J., M. S. Loughnan, et al. (1994). "Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis." *Proc Natl Acad Sci U S A* 91(9): 4082-5.

Davies, F. E., N. Raje, et al. (2001). "Thalidomide and immunomodulatory derivatives augment natural killer cell cytotoxicity in multiple myeloma." *Blood* 98(1): 210-6.

de la Rubia, J., J. Blade, et al. (2006). "Effect of chemotherapy with alkylating agents on the yield of CD34+ cells in patients with multiple myeloma. Results of the Spanish Myeloma Group (GEM) Study." *Haematologica* 91(5): 621-7.

Demirer, T., C. D. Buckner, et al. (1996). "Factors influencing collection of peripheral blood stem cells in patients with multiple myeloma." *Bone Marrow Transplant* 17(6): 937-41.

Dingli, D., G. S. Nowakowski, et al. (2006). "Flow cytometric detection of circulating myeloma cells before transplantation in patients with multiple myeloma: a simple risk stratification system." *Blood* 107(8): 3384-8.

Domenech, J., I. Desbois, et al. (1993). "Sensitivity of human CFU-GM to mafosfamide: analysis of the factors affecting individual variations." *Bone Marrow Transplant* 11(6): 425-31.

Douay, L., N. C. Gorin, et al. (1986). "Recovery of CFU-GM from cryopreserved marrow and in vivo evaluation after autologous bone marrow transplantation are predictive of engraftment." *Exp Hematol* 14(5): 358-65.

Drake, M., L. Ranaghan, et al. (1997). "Analysis of the effect of prior therapy on progenitor cell yield: use of a chemotherapy scoring system." *Br J Haematol* 98(3): 745-9.

Dredge, K., J. B. Marriott, et al. (2002). "Immunological effects of thalidomide and its chemical and functional analogs." *Crit Rev Immunol* 22(5-6): 425-37.

Dreger, P., M. Kloss, et al. (1995). "Autologous progenitor cell transplantation: prior exposure to stem cell-toxic drugs determines yield and engraftment of peripheral blood progenitor cell but not of bone marrow grafts." *Blood* 86(10): 3970-8.

Ellis, R. E. (1961). "The distribution of active bone marrow in the adult." *Phys Med Biol* 5: 255-8.

Facon, T., H. Avet-Loiseau, et al. (2001). "Chromosome 13 abnormalities identified by FISH analysis and serum beta2-microglobulin produce a powerful myeloma staging system for patients receiving high-dose therapy." *Blood* 97(6): 1566-71.

Freyschmidt, J. and J. Wiers (1998). "[The staging of malignant bone tumors]." *Radiologe* 38(6): 483-91.

Fruehauf, S., K. Schmitt, et al. (1999). "Peripheral blood progenitor cell (PBPC) counts during steady-state haemopoiesis enable the estimation of the yield of mobilized PBPC after granulocyte colony-stimulating factor supported cytotoxic chemotherapy: an update on 100 patients." *Br J Haematol* 105(3): 786-94.

Gale, R. P., P. Henon, et al. (1992). "Blood stem cell transplants come of age." *Bone Marrow Transplant* 9(3): 151-5.

Gillespie, T. W. and C. D. Hillyer (1996). "Peripheral blood progenitor cells for marrow reconstitution: mobilization and collection strategies." *Transfusion* 36(7): 611-24.

Giuliani, N., R. Bataille, et al. (2001). "Myeloma cells induce imbalance in the osteoprotegerin/osteoprotegerin ligand system in the human bone marrow environment." *Blood* 98(13): 3527-33.

Goldschmidt, H., U. Hegenbart, et al. (1996). "Mobilization of peripheral blood progenitor cells with high-dose cyclophosphamide (4 or 7 g/m²) and granulocyte colony-stimulating factor in patients with multiple myeloma." *Bone Marrow Transplant* 17(5): 691-7.

Goldschmidt, H., U. Hegenbart, et al. (1997). "Factors influencing collection of peripheral blood progenitor cells following high-dose cyclophosphamide and granulocyte colony-stimulating factor in patients with multiple myeloma." *Br J Haematol* 98(3): 736-44.

Gregory, W. M., M. A. Richards, et al. (1992). "Combination chemotherapy versus melphalan and prednisolone in the treatment of multiple myeloma: an overview of published trials." *J Clin Oncol* 10(2): 334-42.

Greipp, P. R. (1992). "Advances in the diagnosis and management of myeloma." *Semin Hematol* 29(3 Suppl 2): 24-45.

Greipp, P. R., J. A. Katzmann, et al. (1988). "Value of beta 2-microglobulin level and plasma cell labeling indices as prognostic factors in patients with newly diagnosed myeloma." *Blood* 72(1): 219-23.

Greipp, P. R., J. San Miguel, et al. (2005). "International staging system for multiple myeloma." *J Clin Oncol* 23(15): 3412-20.

Haas, R., S. Hohaus, et al. (1992). "Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (rhGM-CSF) subsequent to chemotherapy improves collection of blood stem cells for autografting in patients not eligible for bone marrow harvest." *Bone Marrow Transplant* 9(6): 459-65.

Haas, R., R. Mohle, et al. (1994). "Patient characteristics associated with successful mobilizing and autografting of peripheral blood progenitor cells in malignant lymphoma." *Blood* 83(12): 3787-94.

Hallek, M., P. L. Bergsagel, et al. (1998). "Multiple myeloma: increasing evidence for a multistep transformation process." *Blood* 91(1): 3-21.

Hawkins, T., N. Horvath, et al. (1996). "An incremental response to high-dose therapy in multiple myeloma." *Bone Marrow Transplant* 17(6): 929-35.

Henriksson, M. and B. Luscher (1996). "Proteins of the Myc network: essential regulators of cell growth and differentiation." *Adv Cancer Res* 68: 109-82.

Hilbert, D. M., M. Kopf, et al. (1995). "Interleukin 6 is essential for in vivo development of B lineage neoplasms." *J Exp Med* 182(1): 243-8.

Hohaus, S., H. Goldschmidt, et al. (1993). "Successful autografting following myeloablative conditioning therapy with blood stem cells mobilized by chemotherapy plus rhG-CSF." *Exp Hematol* 21(4): 508-14.

Jacobson, J. L., M. A. Hussein, et al. (2003). "A new staging system for multiple myeloma patients based on the Southwest Oncology Group (SWOG) experience." *Br J Haematol* 122(3): 441-50.

Jerjis, S., S. Croockewit, et al. (2000). "Impact of chemotherapy on the mobilisation, harvest and economic costs of autologous peripheral stem cell transplantation in patients with multiple myeloma." *Leuk Lymphoma* 37(5-6): 551-60.

- Johnsen, H. E., J. Baech, et al. (1999). "Validation of the Nordic flow cytometry standard for CD34+ cell enumeration in blood and autografts: report from the third workshop. Nordic Stem Cell Laboratory Group." *J Hematother* 8(1): 15-28.
- Jones, H. M., S. A. Jones, et al. (1994). "Development of a simplified single-apheresis approach for peripheral-blood progenitor-cell transplantation in previously treated patients with lymphoma." *J Clin Oncol* 12(8): 1693-702.
- Kalmadi, S., R. Baz, et al. (2007). "Lenalidomide: the emerging role of a novel targeted agent in malignancies." *Drugs Today (Barc)* 43(2): 85-95.
- Kaup, S., V. Grandjean, et al. (2006). "Radiation-induced genomic instability is associated with DNA methylation changes in cultured human keratinocytes." *Mutat Res* 597(1-2): 87-97.
- Kessinger, A. and J. O. Armitage (1991). "The evolving role of autologous peripheral stem cell transplantation following high-dose therapy for malignancies." *Blood* 77(2): 211-3.
- Ketterer, N., G. Salles, et al. (1998). "Factors associated with successful mobilization of peripheral blood progenitor cells in 200 patients with lymphoid malignancies." *Br J Haematol* 103(1): 235-42.
- Kiss, J. E., W. B. Rybka, et al. (1997). "Relationship of CD34+ cell dose to early and late hematopoiesis following autologous peripheral blood stem cell transplantation." *Bone Marrow Transplant* 19(4): 303-10.
- Klein, B., X. G. Zhang, et al. (1995). "Interleukin-6 in human multiple myeloma." *Blood* 85(4): 863-72.
- Knudsen, L. M., T. Rasmussen, et al. (1999). "Reduced bone marrow stem cell pool and progenitor mobilisation in multiple myeloma after melphalan treatment." *Med Oncol* 16(4): 245-54.
- Kobbe, G., D. Sohngen, et al. (1999). "Factors influencing G-CSF-mediated mobilization of hematopoietic progenitor cells during steady-state hematopoiesis in patients with malignant lymphoma and multiple myeloma." *Ann Hematol* 78(10): 456-62.

Kotasek, D., K. M. Shepherd, et al. (1992). "Factors affecting blood stem cell collections following high-dose cyclophosphamide mobilization in lymphoma, myeloma and solid tumors." *Bone Marrow Transplant* 9(1): 11-7.

Kroger, N., H. Renges, et al. (2000). "A randomized comparison of once versus twice daily recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (filgrastim) for stem cell mobilization in healthy donors for allogeneic transplantation." *Br J Haematol* 111(3): 761-5.

Kroger, N., W. Zeller, et al. (1998). "Successful mobilization of peripheral blood stem cells in heavily pretreated myeloma patients with G-CSF alone." *Ann Hematol* 76(6): 257-62.

Kukreja, A., A. Hutchinson, et al. (2007). "Bortezomib disrupts tumour-dendritic cell interactions in myeloma and lymphoma: therapeutic implications." *Br J Haematol* 136(1): 106-10.

Li, L. H., C. Nerlov, et al. (1994). "c-Myc represses transcription in vivo by a novel mechanism dependent on the initiator element and Myc box II." *Embo J* 13(17): 4070-9.

Liebisch, P., D. Peest et al. (2005) „Leitlinien Multiples Myelom.“ Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie www.dgho.de

Lowry, P. A. and I. A. Tabbara (1992). "Peripheral hematopoietic stem cell transplantation: current concepts." *Exp Hematol* 20(8): 937-42.

Luoni, R., G. Ucci, et al. (1992). "Serum thymidine kinase in monoclonal gammopathies. A prospective study. The Cooperative Group for Study and Treatment of Multiple Myeloma." *Cancer* 69(6): 1368-72.

Lyng, F. M., P. Maguire, et al. (2006). "The involvement of calcium and MAP kinase signaling pathways in the production of radiation-induced bystander effects." *Radiat Res* 165(4): 400-9.

Marit, G., F. Thiessard, et al. (1998). "Factors affecting both peripheral blood progenitor cell mobilization and hematopoietic recovery following autologous blood progenitor cell transplantation in multiple myeloma patients: a monocentric study." *Leukemia* 12(9): 1447-56.

- Martin-Murea, S., M. T. Voso, et al. (1998). "The dose of granulocyte colony-stimulating factor administered following cytotoxic chemotherapy is not related to the rebound level of circulating CD34+ haemopoietic progenitor cells during marrow recovery." *Br J Haematol* 101(3): 582-5.
- Matanoski, G. M., R. Seltser, et al. (1975). "The current mortality rates of radiologists and other physician specialists: specific causes of death." *Am J Epidemiol* 101(3): 199-210.
- Mitsiades, N., C. S. Mitsiades, et al. (2003). "The proteasome inhibitor PS-341 potentiates sensitivity of multiple myeloma cells to conventional chemotherapeutic agents: therapeutic applications." *Blood* 101(6): 2377-80.
- Moehler, T. M., K. Neben, et al. (2001). "Salvage therapy for multiple myeloma with thalidomide and CED chemotherapy." *Blood* 98(13): 3846-8.
- Mohle, R., S. Murea, et al. (1996). "Estimation of the progenitor cell yield in a leukapheresis product by previous measurement of CD34+ cells in the peripheral blood." *Vox Sang* 71(2): 90-6.
- Mollee, P., D. Pereira, et al. (2002). "Cyclophosphamide, etoposide and G-CSF to mobilize peripheral blood stem cells for autologous stem cell transplantation in patients with lymphoma." *Bone Marrow Transplant* 30(5): 273-8.
- Morris, C. L., E. Siegel, et al. (2003). "Mobilization of CD34+ cells in elderly patients (≥ 70 years) with multiple myeloma: influence of age, prior therapy, platelet count and mobilization regimen." *Br J Haematol* 120(3): 413-23.
- Morris, P. D., T. D. Koepsell, et al. (1986). "Toxic substance exposure and multiple myeloma: a case-control study." *J Natl Cancer Inst* 76(6): 987-94.
- Mothersill, C., F. Lyng, et al. (2001). "Effect of low doses of ionizing radiation on cells cultured from the hematopoietic tissue of the Dublin Bay prawn, *Nephrops norvegicus*." *Radiat Res* 156(3): 241-50.
- Motokura, T. and A. Arnold (1993). "Cyclin D and oncogenesis." *Curr Opin Genet Dev* 3(1): 5-10.

Nademanee, A., I. Sniecinski, et al. (1994). "High-dose therapy followed by autologous peripheral-blood stem-cell transplantation for patients with Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma using unprimed and granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral-blood stem cells." *J Clin Oncol* 12(10): 2176-86.

Padley, D., R. G. Strauss, et al. (1991). "Concurrent comparison of the Cobe Spectra and Fenwal CS3000 for the collection of peripheral blood mononuclear cells for autologous peripheral stem cell transplantation." *J Clin Apher* 6(2): 77-80.

Parmentier, C., N. Morardet, et al. (1983). "Late effects on human bone marrow after extended field radiotherapy." *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 9(9): 1303-11.

Passos-Coelho, J. L., H. G. Braine, et al. (1995). "Predictive factors for peripheral-blood progenitor-cell collections using a single large-volume leukapheresis after cyclophosphamide and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor mobilization." *J Clin Oncol* 13(3): 705-14.

Peest, D., R. Coldewey, et al. (1991). "Overall vs. tumor-related survival in multiple myeloma. German Myeloma Treatment Group." *Eur J Cancer* 27(5): 672.

Peest, D., R. Coldewey, et al. (1993). "Prognostic value of clinical, laboratory, and histological characteristics in multiple myeloma: improved definition of risk groups." *Eur J Cancer* 29A(7): 978-83.

Perea, G., A. Sureda, et al. (2001). "Predictive factors for a successful mobilization of peripheral blood CD34+ cells in multiple myeloma." *Ann Hematol* 80(10): 592-7.

Pettengell, R., G. R. Morgenstern, et al. (1993). "Peripheral blood progenitor cell transplantation in lymphoma and leukemia using a single apheresis." *Blood* 82(12): 3770-7.

Prince, H. M., K. Imrie, et al. (1996). "Peripheral blood progenitor cell collections in multiple myeloma: predictors and management of inadequate collections." *Br J Haematol* 93(1): 142-5.

Pruzanski, W. and M. A. Ogryzlo (1970). "Abnormal proteinuria in malignant diseases." *Adv Clin Chem* 13: 335-82.

Rajkumar, S. V., E. Blood, et al. (2006). "Phase III clinical trial of thalidomide plus dexamethasone compared with dexamethasone alone in newly diagnosed multiple myeloma: a clinical trial coordinated by the Eastern Cooperative Oncology Group." *J Clin Oncol* 24(3): 431-6.

Rettig, M. B., H. J. Ma, et al. (1997). "Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection of bone marrow dendritic cells from multiple myeloma patients." *Science* 276(5320): 1851-4.

Richardson, P. G., B. Barlogie, et al. (2003). "A phase 2 study of bortezomib in relapsed, refractory myeloma." *N Engl J Med* 348(26): 2609-17.

Richardson, P. G., E. Blood, et al. (2006). "A randomized phase 2 study of lenalidomide therapy for patients with relapsed or relapsed and refractory multiple myeloma." *Blood* 108(10): 3458-64.

Richardson, P. G., P. Sonneveld, et al. (2005). "Bortezomib or high-dose dexamethasone for relapsed multiple myeloma." *N Engl J Med* 352(24): 2487-98.

Richardson, P. G., P. Sonneveld, et al. (2007). "Safety and efficacy of bortezomib in high-risk and elderly patients with relapsed multiple myeloma." *Br J Haematol*.

Riedel, D. A. and L. M. Pottern (1992). "The epidemiology of multiple myeloma." *Hematol Oncol Clin North Am* 6(2): 225-47.

Rinn, J. P., N. Schwella, et al. (2006). "Local irradiation prior to stem cell harvest has no influence on CD34+ yield: a quantitative analysis." *Ann Hematol* 85(1): 38-44.

Rossi, H. H., E. J. Hall, et al. (1973). "Biophysical factors in brachytherapy with low- and high-LET radiations." *Radiology* 107(3): 645-9.

Rowley, S. D., R. J. Jones, et al. (1989). "Efficacy of ex vivo purging for autologous bone marrow transplantation in the treatment of acute nonlymphoblastic leukemia." *Blood* 74(1): 501-6.

Rowlings, P. A., J. L. Bayly, et al. (1992). "A comparison of peripheral blood stem cell mobilisation after chemotherapy with cyclophosphamide as a single agent in doses of 4 g/m² or 7 g/m² in patients with advanced cancer." *Aust N Z J Med* 22(6): 660-4.

- Rubin, P., S. Landman, et al. (1973). "Bone marrow regeneration and extension after extended field irradiation in Hodgkin's disease." *Cancer* 32(3): 699-711.
- Sachs, L. (2004). "Angewandte Statistik: Anwendungen statistischer Methoden." S. 575
- Sailer, M., K. F. Vykoupil, et al. (1995). "Prognostic relevance of a histologic classification system applied in bone marrow biopsies from patients with multiple myeloma: a histopathological evaluation of biopsies from 153 untreated patients." *Eur J Haematol* 54(3): 137-46.
- Scarantino, C. W., P. Rubin, et al. (1984). "The paradoxes in patterns and mechanism of bone marrow regeneration after irradiation. 1. Different volumes and doses." *Radiother Oncol* 2(3): 215-25.
- Schiller, G., R. Vescio, et al. (1995). "Transplantation of CD34+ peripheral blood progenitor cells after high-dose chemotherapy for patients with advanced multiple myeloma." *Blood* 86(1): 390-7.
- Schmitz, N., B. Pfistner, et al. (2002). "Aggressive conventional chemotherapy compared with high-dose chemotherapy with autologous haemopoietic stem-cell transplantation for relapsed chemosensitive Hodgkin's disease: a randomised trial." *Lancet* 359(9323): 2065-71.
- Schwartzberg, L., R. Birch, et al. (1993). "Rapid and sustained hematopoietic reconstitution by peripheral blood stem cell infusion alone following high-dose chemotherapy." *Bone Marrow Transplant* 11(5): 369-74.
- Schwella, N., D. Huhn, et al. "Mobilisation und Separation autologer Blutstammzellen. " *Onkologe*, 1998, 4, 639-648
- Schwella, N., D. Kingreen, et al. (1997). "Peripheral blood progenitor cell collection during hematopoietic recovery following autologous blood progenitor cell transplantation." *Vox Sang* 72(2): 118-20.
- Schwella, N., W. Siegert, et al. (1995). "Autografting with blood progenitor cells: predictive value of preapheresis blood cell counts on progenitor cell harvest and correlation of the reinfused cell dose with hematopoietic reconstitution." *Ann Hematol* 71(5): 227-34.

Seong, C., K. Delasalle, et al. (1998). "Prognostic value of cytogenetics in multiple myeloma." *Br J Haematol* 101(1): 189-94.

Serke, S., J. Beyer, et al. (1998). "Analysis of CD34-expressing cells in clinical practice." *Vox Sang* 74 Suppl 2: 469-75.

Seymour, C. B. and C. Mothersill (2000). "Relative contribution of bystander and targeted cell killing to the low-dose region of the radiation dose-response curve." *Radiat Res* 153(5 Pt 1): 508-11.

Sezer, O., U. Heider, et al. (2002). "Immunocytochemistry reveals RANKL expression of myeloma cells." *Blood* 99(12): 4646-7; author reply 4647.

Shimizu, Y., H. Kato, et al. (1992). "Studies of the mortality of A-bomb survivors. 9. Mortality, 1950-1985: Part 3. Noncancer mortality based on the revised doses (DS86)." *Radiat Res* 130(2): 249-66.

Shoenfeld, Y., S. Berliner, et al. (1982). "Familial multiple myeloma. A review of thirty-seven families." *Postgrad Med J* 58(675): 12-6.

Siegel, D. S., K. R. Desikan, et al. (1999). "Age is not a prognostic variable with autotransplants for multiple myeloma." *Blood* 93(1): 51-4.

Silvestri, F., S. Banavali, et al. (1992). "The CD34 hemopoietic progenitor cell associated antigen: biology and clinical applications." *Haematologica* 77(3): 265-73.

Simonsson, B., G. Brenning, et al. (1987). "Prognostic value of serum lactic dehydrogenase (S-LDH) in multiple myeloma." *Eur J Clin Invest* 17(4): 336-9.

Sirohi, B. and R. Powles (2004). "Multiple myeloma." *Lancet* 363(9412): 875-87.

Sirohi, B., R. Powles, et al. (2000). "The role of autologous transplantation in patients with multiple myeloma aged 65 years and over." *Bone Marrow Transplant* 25(5): 533-9.

Slanina, J., K. Musshoff, et al. (1977). "Long-term side effects in irradiated patients with Hodgkin's disease." *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2(1-2): 1-19.

Spisek, R., A. Charalambous, et al. (2007). "Bortezomib enhances dendritic cell (DC) mediated induction of immunity to human myeloma via exposure of cell surface heat shock protein 90 on dying tumor cells: therapeutic implications." *Blood*.

Spitzer, G., D. S. Verma, et al. (1980). "The myeloid progenitor cell--its value in predicting hematopoietic recovery after autologous bone marrow transplantation." *Blood* 55(2): 317-23.

Strauss, L. C., C. Brovall, et al. (1986). "Antigenic analysis of hematopoiesis. IV. The My-11 hematopoietic cell surface antigen is expressed by myelomonocytic and lymphoid, but not erythroid, progenitor cells." *Exp Hematol* 14(10): 935-45.

Sykes, M. P., F. C. Chu, et al. (1964). "The Effects of Varying Dosages of Irradiation Upon Sternal-Marrow Regeneration." *Radiology* 83: 1084-8.

Teshima, T., M. Harada, et al. (1992). "Cytotoxic drug and cytotoxic drug/G-CSF mobilization of peripheral blood stem cells and their use for autografting." *Bone Marrow Transplant* 10(3): 215-20.

To, L. B., M. M. Roberts, et al. (1992). "Comparison of haematological recovery times and supportive care requirements of autologous recovery phase peripheral blood stem cell transplants, autologous bone marrow transplants and allogeneic bone marrow transplants." *Bone Marrow Transplant* 9(4): 277-84.

Torres, A., M. C. Alonso, et al. (1985). "No influence of number of donor CFU-GM on granulocyte recovery in bone marrow transplantation for acute leukemia." *Blut* 50(2): 89-94.

Tricot, G., S. Jagannath, et al. (1995). "Peripheral blood stem cell transplants for multiple myeloma: identification of favorable variables for rapid engraftment in 225 patients." *Blood* 85(2): 588-96.

Tubiana, M., E. Frindel, et al. (1979). "Effects of radiations on bone marrow." *Pathol Biol (Paris)* 27(6): 326-34.

Unnithan, J. and R. M. Macklis (2004). "TRAIL induction by radiation in lymphoma patients." *Cancer Invest* 22(4): 522-5.

Watts, M. J., A. M. Sullivan, et al. (1997). "Progenitor-cell mobilization after low-dose cyclophosphamide and granulocyte colony-stimulating factor: an analysis of progenitor-cell quantity and quality and factors predicting for these parameters in 101 pretreated patients with malignant lymphoma." *J Clin Oncol* 15(2): 535-46.

Weaver, C. H., B. Hazelton, et al. (1995). "An analysis of engraftment kinetics as a function of the CD34 content of peripheral blood progenitor cell collections in 692 patients after the administration of myeloablative chemotherapy." *Blood* 86(10): 3961-9.

Weaver, C. H., L. S. Schwartzberg, et al. (1997). "Collection of peripheral blood progenitor cells after the administration of cyclophosphamide, etoposide, and granulocyte-colony-stimulating factor: an analysis of 497 patients." *Transfusion* 37(9): 896-903.

Williamson, D. F., R. A. Parker, et al. (1989). "The box plot: a simple visual method to interpret data." *Ann Intern Med* 110(11): 916-21.

Zhou, H., V. N. Ivanov, et al. (2005). "Mechanism of radiation-induced bystander effect: role of the cyclooxygenase-2 signaling pathway." *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(41): 14641-6.

Zhou, H., G. Randers-Pehrson, et al. (2002). "Genotoxic damage in non-irradiated cells: contribution from the bystander effect." *Radiat Prot Dosimetry* 99(1-4): 227-32.

7. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Jan-Peter Rinn
Adresse: An der schönen Aussicht 50
33098 Paderborn
geboren: 13. Januar 1974 in Lippstadt
Eltern: Barbara Rinn
Dr. Wolfgang Rinn

Schulbildung

08 / 84 - 06 / 93 Ostendorf-Gymnasium, Lippstadt
06 / 93 Abitur

Studium der Pharmazie

10 / 93 - 05 / 98 Studium der Pharmazie an der Philipps-Universität Marburg
05 / 98 - 05 / 99 Praktisches Jahr, Apotheke am Osswaldsgarten, Gießen
05 / 99 Approbation als Apotheker

Studium der Medizin

10 / 99 - 09 / 05 Philipps-Universität Marburg
10 / 04 - 10 / 05 Praktisches Jahr
Kreiskrankenhaus Frankenberg, Innere Medizin
Universitätsklinikum Marburg, Kinder- und Jugendpsychiatrie
Universitätsklinikum Genf, Chirurgie
12 / 05 Approbation als Arzt

Berufliche Tätigkeit

seit 04 / 06 Assistenzarzt in der Abteilung für Innere Medizin,
St. Vincenz Krankenhaus Paderborn

8. Veröffentlichungen

Effects of prior irradiation and chemotherapy on the mobilisation of PBPCs in patients with multiple myeloma, Posterpräsentation bei der Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie 4.-6. Oktober 2004 in Innsbruck

Rinn JP. Schwella N. Wollmer E. Jaques G. Heinzel-Gutenbrunner M. Strassmann G. Gross MW. Movassaghi K. Neubauer A. Ritter M.: Local irradiation prior to stem cell harvest has no influence on CD34+ yield: a quantitative analysis. Ann Hematol 2006 85: 38-44.

9. Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer an der Philipps-Universität Marburg waren die Damen und Herren:

Studium der Pharmazie:

Bremecker, Dilg, Fahr, Feuser, Gillmann, Haake, Häberlein, Hanefeld, Hölzel, Imminig, Kissel, Klumpp, Krigelstein, Kuschinsky, Matern, Matusch, Radsak, Seitz, Wichtl-Bleier

Studium der Humanmedizin:

Arnold, Aumüller, Bacher, Barth, Basler, Baum, Beyer, Christiansen, Czubayko, Daut, Doss, Feuser, Gemsa, Görg, Gotzen, Griss, Grundmann, Happle, Hasilik, Hellinger, Hesse, Hofmann, Jungclas, Kern, Kienapfel, Klenk, Kretschmer, Krieg, Kroll, Lang, Lennartz, Lippert, Meinhardt, Moll, Müller, Mutters, Neubauer, Niessing, Oertel, Remschmidt, Ritter, Schachtschabel, Schäfer, Schmidt, Schnabel, Schneyer, Schüffel, Schwella, Seitz, Steiniger, Sundermeyer, Vogelmeier, Voigt, Wahl, Weihe, Werner, Westermann, Wolf

10. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich sehr herzlich bei allen Menschen bedanken, die entscheidend zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Herrn Prof. Dr. Andreas Neubauer danke ich dafür, dass er mich als Leiter der Klinik für Hämatologie, Onkologie und Immunologie als Doktorand angenommen hat und für die hilfreichen Anregungen.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. Markus Ritter für die hervorragende fachliche und persönliche Betreuung und sein unermüdliches Engagement.

Herrn PD. Dr. Nimrod Schwella danke ich für die Bereitstellung wichtiger Unterlagen und seine konstruktive Kritik.

Für ihre große Hilfsbereitschaft und die Dokumentation und Bereitstellung der Patientendaten bin ich Frau Ramona Vietzke sehr dankbar

Frau Cordula Löchelt und Frau Almut Wachtel gilt mein Dank für die Durchführung der CFU-GM-Analysen und ihre Hilfestellung.

Bedanken möchte ich mich bei Frau Dr. Monika Heinzl- Guttenbrunner für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Daten.

Die Damen und Herren Dr. Movassaghi, Dr. Wollmer, Prof. Dr. Neuser, PD Dr. Groß, PD Dr. Jaques und PD Dr. Strassmann haben auf verschiedene Weise zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Dafür gebührt ihnen mein Dank.

Herrn Reinhard Rinn danke ich für die orthographische Korrektur.

Meiner Familie möchte ich ganz besonders danken für die außergewöhnliche Förderung während meiner gesamten Ausbildung.

Meiner Freundin Daniela Mielke danke ich von Herzen für ihre Geduld und das Verständnis, das sie mir entgegenbrachte. Ohne Ihre liebevolle Unterstützung und Motivation hätte diese Arbeit bis heute nicht fertig gestellt werden können.

11. Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin Marburg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel

**Auswirkungen der strahlen- und chemotherapeutischen Vorbehandlung auf die
Mobilisation und Separation von peripheren Blutstammzellen bei Patienten mit
Plasmozytom**

in der Klinik für Hämatologie, Onkologie und Immunologie (Leitung Prof. Dr. A. Neubauer) mit Unterstützung durch PD Dr. Markus Ritter ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keinem in- und ausländischen Medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Marburg, den